KRITISCHE BETRACHTUNG DER ZUCKERBESTIMMUNGSMETHODEN.

ÜBER DIE EINWIRKUNG VON PANKREASEXTRAKT UND MUSKELPLASMA AUF GLUKOSE.

ADSORPTION UND ELUTION VON PANKREASMALTASE.

(Trennung von Pankreasamylase).

Richard GIESSEN.

KRITISCHE BETRACHTUNG DER ZUCKERBESTIMMUNGSMETHODEN.

ÜBER DIE EINWIRKUNG VON PANKREASEXTRAKT UND MUSKELPLASMA AUF GLUKOSE.

ADSORPTION UND ELUTION VON PANKREASMALTASE

(Trennung von Pankreasamylase).

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der hohen philosophischen Fakultät
(Sektion II)
der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt
im Juli 1927
von

Richard GIESSEN
aus Zweibrücken.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

KRITISCHE BETRACHTUNG DER ZUCKERBESTIMMUNGSMETHODEN.

Es existieren eine grosse Zahl von Methoden, von Abänderungen derselben und wiederum von Abänderungen dieser Abänderungen. Kritik und Antikritik, das Aufkommen und Empfehlen neuer Verfahren nehmen gerade in den letzten Jahren einen beträchtlichen Umfang an. Unterwirft man alle diese Verfahren einer erschöpfenden Kritik, so bleiben nur sehr wenige übrig, die den Anforderungen genügen, die eben erfüllt sein müssen, damit eine Methode eine brauchbare ist. Dabei stellt sich heraus, dass von vielen die Sachlage mehr oder minder verkannt wird. Die Folge davon ist, dass Behauptungen aufgestellt werden, die eben ganz und gar nicht zutreffen. Ferner wird manches als neu beschrieben, was in Wirklichkeit sehr alt ist. Verbesserungen allein berechtigen nicht eine Methode als neu zu bezeichnen.

Es soll hier der Versuch gemacht werden zu entscheiden, ob die MOHR-BERTRAND'sche Methode die geeignetste ist oder nicht. Wenn diese Frage nicht restlos geklärt werden kann. so liegt dies nicht daran, dass eben alle anderen Methoden nicht ausprobiert wurden, sondern dass noch ein Grund vorliegt und Ursachen vorhanden sind, die noch nicht genügend geklärt sind. Davon wird später die Rede sein.

Beim Vergleichen quantitativer Methoden und Verfahren kommen in erster Linie die Empfindlichkeit und die Genauigkeit in Betracht, dann die Wirtschaftlichkeit, wie Umfang des Anwendungsgebietes, Zeitdauer der Durchführung, Kosten der Materialien und Apparatur. Streng genommen sind die drei zuletzt genannten Faktoren auch nur Bestandteile des Umfanges des Anwendungsgebietes. Die besondere Anführung dient zur Erleichterung der Aufgabe.

Von diesen Faktoren sind es hauptsächlich die Genauigkeit und der Umfang des Anwendungsgebietes im Bezug auf die Oxydation der zu reduzierenden Zucker allein, die verkannt werden. Es ist daher notwendig, die Bedingungen kennen zu lernen, bei welchen die Oxydation den für quantitative Zwecke notwendigen Verlauf nimmt.

Die Oxydation findet in mehr oder minder stark alkalischen Medien statt. Neben dem Einfluss des Alkali auf das Oxydationsreagenz werden durch die alkalische Reaktion die reduzierenden Zucker mehr oder minder angegriffen. Namentlich das für die Oxydation wichtige, reaktionsfähige Karbonyl. Diesen Einfluss des Alkali auf die reduzierenden Zucker kann man als Zerstörungsvorgang oder als Zerstörungsreaktion bezeichnen. Man unterscheidet daher bei der Oxydation der reduzierenden Zucker:

I. den Oxydationsvorgang,

II. den Zerstörungsvorgang.

Die Bedingungen für Änderung beider Reaktionen in jeder Hinsicht sind in hohem Maße gegeben. Sie können erfolgen durch ändern:

1) der Art des Alkali,
2) der Art des Oxydationsmittels,
3) der Art einer oder mehrerer zugesetzter Stoffe,
4) der Art des reduzierenden Zuckers,
5) der Konzentration des Alkali,
6) der Konzentration des Oxydationsmittels,
7) der Konzentration einer oder mehrerer zugesetzter Stoffe,
8) der Konzentration des reduzierenden Zuckers,
9) der Einwirkungstemperatur,
10) der Einwirkungsdauer.

Ferner durch Kombination von 1) bis 10).

Die Oxydationsmöglichkeiten werden bestimmt durch die Faktoren 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, die Oxydationsbedingungen durch die Faktoren 9 und 10. Es braucht nicht besonders betont zu werden, dass die Wirkungsweise der Faktoren eine verschiedene ist. (Dass auch die reduzie-

renden Zucker selbst einen Einfluss ausüben, beweist die Unproportionalität der Bestimmungstabellen.)

Die Bedingungen, die für die Empfindlichkeit maßgebend sind, werden durch folgende einfache Überlegung gefunden:

a) Wird bei Konstanz 1 stark oder 5 gross, so wird O kleiner, Z grösser. Das heisst bei sonstiger Unveränderlichkeit der unter 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10 der Tabelle angeführten Variationsfaktoren wird nach 1 der Tabelle ein stärkeres Alkali genommen oder nach 5 der Tabelle die Konzentration des Alkali vergrössert, so wird die Oxydationswirkung kleiner, die Zerstörungswirkung grösser.

b) Wird bei Konstanz 1 schwach oder 5 klein, so wird O grösser, Z kleiner.

a_1) Wird bei Konstanz 2 schwach oder 6 klein, so wird O kleiner, Z grösser.

b_1) Wird bei Konstanz 2 stark oder 6 gross, so wird O grösser, Z kleiner.

Kombiniert man a mit a_1 und b mit b_1, so wird im ersten Fall O noch kleiner, Z noch grösser, im letzten O noch grösser, Z noch kleiner. Wird jetzt bei a, b, a_1, b_1 das „oder" durch „und" ersetzt, dann heisst es 1 stark und 5 gross, 1 schwach und 5 klein, 2 schwach und 6 klein, 2 stark und 6 gross, so kommt man schliesslich durch entsprechende Kombinationen dieser neuen Variationen bei entsprechender Temperatur und Zeitdauer zu zeitlich praktisch getrennt verlaufenden Reaktionen. Es ist leicht ersichtlich, dass die Empfindlichkeit bei Ausschaltung der Zerstörungsreaktion einen grösseren Wert erreicht, als bei zeitlich praktisch nicht getrennt verlaufenden Reaktionen. Jedoch erlaubt der an sich grosse Wert der Empfindlichkeit einen (mehr oder minder) gleichzeitigen Ablauf der Zerstörungsreaktion bis zu einer gewissen Grenze, die von der Oxydationsmöglichkeit und von der Oxydationsbedingung abhängig ist. Das Verhältnis zwischen Oxydation und Zerstörung darf einen gewissen Wert

nicht unterschreiten, wenn die Methode noch eine quantitative sein soll. Es ist ferner auch nicht notwendig, das Eintreten der Reaktionen in ihr Gleichgewicht abzuwarten. Man kann die Reaktion durch Zerstören ihrer wirksamen Bestandteile ausschalten oder durch Verändern der herrschenden Bedingungen den weiteren Verlauf so träge gestalten, dass innerhalb einer gewissen Zeit keine messbare Änderung stattfindet.

Da eine Änderung der Höhe der Temperatur und Zeitdauer der Einwirkung, weiter der Konzentration des Alkali einerseits und des Oxydationsmittels andererseits oder beider zugleich, ferner der Konzentration einer oder mehrerer zugesetzter Stoffe einen mehr oder minder grossen Unterschied sowohl auf den zeitlichen Verlauf als auch auf die Grösse beider Reaktionen zur Folge hat, so ist es unbedingt für die Genauigkeit erforderlich, die Oxydation des reduzierenden Zuckers immer unter gleichen Bedingungen verlaufen zu lassen. Andererseits kann eine Methode auch bei einer weniger exakten Durchführung dieser Bedingungen den Anspruch auf grosse Genauigkeit erheben, wenn die Möglichkeit und die Bedingung der Oxydation so beschaffen sind, dass die dadurch entstehenden geringen Änderungen keinen messbaren Einfluss ausüben.

Die Schwierigkeit der Frage der Beurteilung der geeignetsten Methoden bietet der Faktor, Umfang des Anwendungsgebietes, in bezug auf die Oxydation des reduzierenden Zuckers allein. Da dieser Faktor entscheidend für die Wertung ist und meistens verkannt wird, wie schon gesagt ist, so ist es nicht nur berechtigt, sondern notwendig, bei diesem Punkte länger zu verweilen. Der Faktor ist bedingt durch die Anwesenheit der Variationsfaktoren 3 und 7 der Tabelle. Schon verhältnismässig früh werden

beschrieben bei Anwendung der TROMMER'schen Flüssigkeit zur Oxydation von reduzierenden Zucker die störenden Einflüsse von Harnsäure, Harn- und Gallenstoffen, Eiweiss, Kreatinin, Kreatin, Albumin, Ammonsalzen, weiter von Arzneimittel, z.B. Chloral, Salicylsäure, Salol, Phenacetin, Antifebrin.[1] Neueren Datums sind Feststellungen von Störungen bei Anwendung anderer Oxydationsflüssigkeiten bei Gegenwart von Eiweiss, Harnstoff, Harnsäure, Kreatinin, Kreatin, Aminosäuren, Glukuronsäure.[2] Auch über den Einfluss von Salzen wird öfters berichtet, so üben Erdalkalien und Ammonsalze eine hemmende Wirkung aus, desgleichen Bleiacetat, das Natriumsalz der Trichloressigsäure.[3] Die Art der Wirkung der Stoffe kann eine verschiedene sein: Die Stoffe beeinflussen katalytisch den zeitlichen Verlauf und die Grösse der Oxydation und der Zerstörung; sie bleiben unverändert. Die Stoffe oxydieren und reduzieren; dieser Eigenschaft entspricht eine Erhöhung der Konzentration des Oxydationsmittels und des reduzierenden Zuckers. Die Stoffe bilden Salze oder komplexe Verbindungen mit den wirksamen Bestandteilen; sie vermindern

---

1) G.VULPIUS, C.1892, 340; E.DRECHSEL, B.25, 3, 2454(1892); P.BALKE, J.pr.47, 537 (1893); M.KRÜGER, H.18, 351(1894); A.JOLLES, C.1895, I, 175 u. Ch.Z.18, 1590 (1894); N.WENDER, C.1894, 306; GRIMBERT, Journ.de Pharm.25, 5, 421 (LIPPMANN, Chemie der Zuckerarten 1895).

2) A.FOYER, Ned.Tijdschr.Gen.65, 2, 866 (1921); L.ROSENTHALER, Pharm.Zentrh.66, 517 (1925); H.Fr.HOLDEN, Biochem.Journ.20, 263 (1926); S.P.L.SÖRENSEN u.L.LORBER, B.60, 999 (1927).

3) L.EYNON u. H.LANE, Soc.Chem.Ind.42, T.143 (1923); I.B.HARRIS, Ind. and Engin.13, 925 (1922); D.STIVEN, Biochem.Journ.18, 19 (1924); P.FLEURY u. P.TAVERNIER, Pharm. et Chim. (7) 30, 225 (1925).

die Konzentration der wirksamen Bestandteile. Da der Fehler, wie leicht ersichtlich ist, nur selten konstant ist, sondern mehr oder minder proportional sein wird, kann man nicht, selbst bei einem möglichen Innehalten gleicher Konzentrationen der störenden Stoffe den durch einen Versuch ermittelten Fehler auf andere Zuckerkonzentrationen übertragen. Eine noch grössere Fälschung des wahren Fehlers kann erzielt werden, bei solchen Versuchen, die eine Artänderung einer oder mehrerer Stoffe zulassen. Diese Irrtümer können eben nicht beseitigt werden, weil eine spezifische Oxydationsmöglichkeit und damit eine spezifische Oxydationsbedingung, die für praktische quantitative Zwecke geeignet sind, nicht existiert, und das ist eben der Grund, warum die Frage der geeignetsten Methoden nicht restlos gelöst werden kann. Da die Wirkung störender Stoffe sich mehr oder minder auch bei der Art und Weise der Bestimmung des Oxydationswertes bemerkbar macht, so sind solche Stoffe, die als störend erkannt werden, nach Möglichkeit zu entfernen. Diese Möglichkeit besteht sehr oft nicht. Es erhebt sich daher die Frage nach der Oxydationsmöglichkeit und nach der Oxydationsbedingung, ferner nach der Art und Weise der Bestimmung des Oxydationswertes, bei welchen sich die störenden Einflüsse einer oder mehrerer Stoffe am wenigsten bemerkbar machen, und somit nach der besten Methode.

Auf Grund der Bedingungen der Empfindlichkeit und der Genauigkeit kann man die Methoden einteilen in:

A. Methoden, die auf zeitlich praktisch getrennt verlaufenden Reaktionen beruhen. a) Der Oxydationsvorgang verläuft nicht praktisch oder b) praktisch vollständig. Der Oxydationswert ist a) empirisch bestimmt oder b) durch eine chemische Gleichung ausgedrückt.

B. Methoden, die auf zeitlich nicht praktisch getrennt

verlaufenden Reaktionen beruhen. Beide Reaktionen verlaufen praktisch vollständig. Der Oxydationswert ist empirisch bestimmt.

C. Methoden, die auf zeitlich nicht praktisch getrennt verlaufenden Reaktionen beruhen. Beide Reaktionen verlaufen nicht praktisch vollständig. Der Oxydationswert ist empirisch bestimmt.

Die Überlegenheit von $A_{b)}$ gegenüber B und C, und B gegenüber C liegt in einer grösseren Empfindlichkeit und in einer exakteren Durchführung der Genauigkeitsbedingung. Ob $A_{b)}$ bei Anwesenheit störender Stoffe weiterhin begünstigt bleibt, ist der Zweck der weiteren Ausführung. Es ist leicht einzusehen, dass der Fehler, den die störenden Stoffe verursachen, umso kleiner wird, einerseits je spezifischer die Oxydationsmöglichkeit ist, andererseits je rascher die untere Grenze der Empfindlichkeit erreicht wird. Die ideale Oxydationsmöglichkeit und die ideale Oxydationsbedingung sind somit festgelegt. Die geeignetste Methode wird daher unter den bei C anzuführenden zu suchen sein und sie findet sich hier, da die anderen Beurteilungsfaktoren der Methoden nicht so beschaffen sind, um einen Übergang in eine andere Gruppe zu rechtfertigen. $A_{a)}$ kommt nicht in Betracht, weil das starke Oxydationsmittel, das naturgemäss angewendet werden muss, um zeitlich praktisch getrennt verlaufende Reaktionen zu gewährleisten eine Vermehrung störender Stoffe im reduzierenden Sinn bewirkt; ferner ist die Möglichkeit gegeben, dass katalytisch störende Stoffe den nichtpraktischen Verlauf der Zerstörungsreaktion zu einem praktischen gestalten können. Weiter ist die Unterbrechung infolge der grossen Reaktionsgeschwindigkeit beim Erreichen oder Überschreiten der unteren Empfindlichkeitsgrenze eine so unscharfe, dass die Grenzen der Genauigkeitsbedingung weit überschritten werden. B kommt wegen Nichterfüllen der Oxydationsbedingung nicht in Frage. Durch den Faktor, Umfang des Anwen-

dungsgebietes, werden die Vorteile von A und B gegenüber C nicht nur kompensiert, sondern C gegenüber A und B entschieden begünstigt. Andererseits ist die geeignetste Methode auch abhängig von der Art und Weise der Bestimmung des Oxydationswertes, wie schon gesagt ist. Hier ist es wiederum der Faktor, Umfang des Anwendungsgebietes, der bestimmend ist, da die Art und Weise der Bestimmung des Oxydationswertes meist solche Hilfsmittel verwendet, die eine Vermehrung störender Stoffe im reduzierenden Sinn bewirken. Die die Oxydation störenden Stoffe verstärken oder schwächen einen schon vorhandenen Fehler, die nichtstörenden Stoffe verursachen einen Fehler. Es besteht hier nun, von einer Ausnahme abgesehen, die Möglichkeit durch fast völliges Entfernen aller Stoffe die Art und Weise der Bestimmung des Oxydationswertes zu einer spezifischen zu gestalten. Somit ist auch dieser Teil der Frage beantwortet. Ob nun innerhalb der Genauigkeitsbedinung die ideale Oxydationsmöglichkeit und die ideale Oxydationsbedingung neben der spezifischen Art und Weise der Bestimmung des Oxydationswertes möglich ist oder nicht, und wie weit bei Unmöglichkeit innerhalb der Genauigkeitsbedingung die Bestfaktoren aufeinander abgestimmt sein müssen, um die besten Resultate zu gewährleisten, kann nicht bestimmt gesagt werden, da die notwendigen Unterlagen fehlen, und das sind eben die Ursachen, die vorhanden sind, bei der Frage der geeignetsten Methode. Weitaus der grösste Teil der heute existierenden Oxydationsmöglichkeiten und Oxydationsbedingungen hat die Verbesserung der Empfindlichkeit und Genauigkeit auf Grund einer nur reduzierende Zucker enthaltende Lösung und die zeitliche Haltbarkeit der Oxydationsflüssigkeit zum Ziele gehabt. Es kann hier nur festgestellt werden, dass es Oxydationsmöglichkeiten gibt, die innerhalb der Genauigkeitsbedingung neben der

spezifischen Art und Weise der Bestimmung des Oxydationswertes eine annähernd spezifische Oxydationsmöglichkeit und eine annähernd ideale Oxydationsbedingung zulassen. Da der spezifische Faktor, Art und Weise der Bestimmung des Oxydationswertes, eine Abstimmung sehr schlecht verträgt, andererseits eine spezifische Oxydationsmöglichkeit und Oxydationsbedingung nicht existieren, und weiterhin für den Idealfall keine Anhaltspunkte vorhanden sind, so muss diese Art von Abstimmung als Grundlage für die geeignetste Methode genommen werden. So wenig sagend eigentlich diese Grundlage ist, so gross ist ihre Wirkung auf die nicht kleine Zahl der Methoden und Verfahren. Wendet man jetzt bei den noch vorhandenen Methoden die Beurteilungsfaktoren sinngemäss an, so wird inbezug auf die Art und Weise der Bestimmung des Oxydationswertes eine klare Überlegenheit der MOHR-BERTRAND'schen Methode gefunden. So ist denn die MOHR-BERTRAND'sche Methode die geeignetste Methode. Aber die Möglichkeit einer weiteren Verbesserung der Oxydation des reduzierenden Zuckers verdient Beachtung.

Die Überlegenheit einer Spezialmethode wird dadurch nicht bestritten. Falsch ist es aber diese Überlegenheit zu verallgemeinern, wie dieses geschehen ist. Die bei Abwesenheit störender Stoffe festgestellte Güte einer Methode kann nicht als Maßstab dienen. So berichten Al.JONESCU und El.SPIRESCU[4] von ihrer neuen Methode, dass dieselbe der MOHR-BERTRAND'schen Methode inbezug auf Genauigkeit gleichwertig und inbezug auf Technik, Apparatur und scharfes Erkennen des Umschlagspunktes überlegen ist. Diese Methode arbeitet mit einer weniger spezifischen Oxydationsmöglichkeit und gehört dem Reaktionsverlauf nach in

---

4) Bul.Soc.de Chim.din.Rom. 6, 101 (1925).

die Gruppe B. Aber auch bei Abwesenheit störender Stoffe ist keine Gleichwertigkeit vorhanden. Die Konzentrationsänderungen, die hier von der Zuckerkonzentration bedingt werden, sind, selbst wenn die Oxydationsflüssigkeit die Eigenschaft aufweist gegen geringe Änderungen unempfindlich zu sein, so gross, dass die Grenzen der Genauigkeit einer guten Methode überschritten werden. Die Methode ist übrigens nicht neu.[5] Der unscharfe Umschlagspunkt ist nicht die alleinige Ursache für die frühzeitige Aufgabe dieser im Prinzip schon durchgeführten Methode gewesen. Dieser Punkt gibt andererseits bei richtiger Durchführung der MOHR-BERTRAND'schen Methode zu keiner Klage Anlass (siehe Ausführung der MOHR-BERTRAND'schen Methode).

Eine Gleichwertigkeit behaupten weiter R.WILLSTÄTTER und G.SCHUDEL[6] von ihrer Methode. Wenn dieselbe richtig arbeiten würde, so müsste sie bei Abwesenheit störender Stoffe der MOHR-BERTRAND'schen Methode überlegen sein, was aber nicht gesagt wird. Die Methode befindet sich nämlich unter den bei $A_{b)}$ anzuführenden Methoden. Der Einwand, der hier gemacht werden kann, dass im Vergleich zu der MOHR-BERTRAND'schen Methode ein Fehler zwar häufiger und grösser ist, aber infolge des starken Oxydationsmittels und der verhältnismässig langen Reaktionsdauer mehr konstant und daher zu korrigieren ist, kann man nicht gelten lassen. Der Fehler wird nur dann diese Eigenschaft aufweisen, wenn die Konzentration und Art der störenden Stoffe immer dieselbe ist, solche Stoffe nur eine rein reduzierende Wirkung ausüben und die Konzentration des Oxydationsmittels eine so grosse ist, dass der notwendige schnelle Verlauf der Oxydation gewährleistet ist. Abgesehen von diesem

---

5) C.STAHLSCHMIDT, B. 1, 141 (1868); J.QUINKE , F.31, 1 (1892).

6) B. 51, 1, 780 (1918).

Nachteil des Innehaltens gleicher Konzentrationen und Art störender Stoffe, was sehr oft nicht möglich ist, sind die getrennt verlaufenden Reaktionen zeitlich so kurz von einander geschieden, dass es nur einer Änderung der Zuckerkonzentration bedarf, um den Verlauf der Zerstörungsreaktion herbeizuführen. Ob die Zerstörung von dem Alkali allein bewirkt wird, oder ob eine weitere Oxydation stattfindet, kann nicht gesagt werden. R.ZABLINSKY[7] stellt fest, dass zur Erlangung günstiger Resultate die zugesetzte Menge Natronlauge in einem ganz bestimmten Verhältnis zur vorhandenen Zuckermenge stehen muss. Anwesende Stoffe werden daher überwiegend diesen zeitlichen Verlauf beeinträchtigen. Der Faktor ist dann nicht konstant, sondern es wird sowohl der Zahl als auch der Grösse nach eine gröbere Fälschung des Resultates verursacht werden, als bei der MOHR-BERTRAND'schen Methode. -

F.A.QUISUMBING und A.W.THOMAS[8] glauben sogar die Irrtümer, die entstehen, mit ihrer Methode beseitigt zu haben. Dieses ist jedoch wiederum ein Irrtum. Diese Methode gehört in die Gruppe B und ist aus diesem Grunde der MOHR-BERTRAND'schen Methode unterlegen. Die Methode legt aber weiterhin hauptsächlich Wert darauf, dass der störende Einfluss des Alkali und auch des Seignettesalzes möglichst ausgeschaltet wird. Dieses ist aber nur unter ganz bestimmten Bedingungen zu erreichen, was die grosse Sorgfalt bei der Herstellung der Oxydationsflüssigkeit und bei der Durchführung der Oxydation beweist. Die Oxydationsmöglichkeit und die Oxydationsbedingung zeigen daher die Eigenschaft gegen geringe Änderungen, welche die störenden Stoffe bedingen, sehr empfindlich zu sein. Die Methode ist selbst

---

7) Ztschr.Ver.Dtsch.Zuckerind. 1919, 159.

8) Amer.Soc. 43, 1503 (1922).

bei Anwesenheit störender Stoffe der MOHR-BERTRAND'schen Ausführung unterlegen, da die etwas grössere Genauigkeit in keinem Verhältnis steht zu der Zeitdauer der Durchführung und den Kosten der Apparatur auch bei einer Modifikation der Art und Weise der Bestimmung des Oxydationswertes nach Ed.LASAUSSE.[9]

Die Genauigkeit der MOHR-BERTRAND'schen Methode wird meistens unterschätzt. Dass dieselbe eine sehr gute ist, beweist die Anwendung dieser Methode in der Mikroanalyse. Hier dürfte der von A.KORWASKY[10] eingeschlagene Weg der beste sein. Ob die von I.GREINER[11] vorgenommene Änderung der Oxydationsmöglichkeit eine Verbesserung ist oder nicht, kann nicht gesagt werden. Jedenfalls gibt auch hier die MOHR-BERTRAND'sche Methode zuverlässigere Resultate als die viel angewendete BANQ'sche Methode. Der grössere Zeitaufwand bei der Durchführung der MOHR-BERTRAND'schen Methode ist nicht ausschlaggebend. Abgesehen von dem Wegfall des spezifischen Faktors, Art und Weise der Bestimmung des Oxydationswertes bei der BANQ'schen Methode kann bei dieser Methode die Genauigkeitsbedingung nicht so gut eingehalten werden, wie dies bei der MOHR-BERTRAND'schen Methode möglich ist. Dass auch hier die Oxydationsmöglichkeit und die Oxydationsbedingung gegen Konzentrationsänderungen empfindlich sind, beweisen die Ausführungen von B.OPPLER[12]! Daran kann auch die Antikritik des Urhebers dieser Methode nichts ändern. Der bei dieser Methode betonte Hinweis, dass durch den eingeleiteten Wasserdampf der für das Kupferoxydul schädli-

---

9) Pharm. et Chim. (7) 26, 401 (1922).
10) Dtsch.med.Wochschr. 45, 188 (1920).
11) Biochem.Ztschr. 128, 274 (1922).
12) Biochem.Ztschr. 87, 267 (1920).

che Luftsauerstoff verdrängt wird, trifft nicht zu, da die Oxydation bei 60-70°C einsetzt und ein sehr grosser Teil des Zuckers schon oxydiert ist, ehe der Siedepunkt erreicht wird. Es dürfte im Gegenteil dem infolge der Kondensation des Wasserdampfes emporgewirbelten Kupferoxydul sehr oft die Möglichkeit gegeben sein, mit dem Luftsauerstoff in Reaktion zu treten, ehe die verdrängende Wirkung des Wasserdampfes einsetzt. (Die Wasserdampfheizung auf die MOHR-BERTRAND'sche Methode angewendet ergaben Differenzen von fast 1 ccm Permanganat.)

Es ist nicht nur wünschenswert für den, der eine Zuckerbestimmung durchführen muss, sondern auch notwendig für den Beweis der grossen Genauigkeit der MOHR-BERTRAND'schen Methode eine Beschreibung und Durchführung dieser Methode folgen zu lassen. Der Leitgedanke, grösste Genauigkeit bei raschester Durchführung neben bequemen Arbeiten hat manche Änderungen von der Norm bedingt, Diese Änderungen sind auf Grund eingehender Versuche entstanden und erprobt und werden an späterer Stelle begründet werden.

Die Lösungen. Da die alkalische Seignettesalzlösung mit der Zeit einer Zersetzung unterworfen ist, so wird die schon von F.v.SOXHLET[13)] empfohlene Trennung des Seignettesalzes von der Lauge zur Bedingung gemacht. Um in dieser Hinsicht alles getan zu haben, bewahrt man sämtliche Lösungen in braunen oder blauen Flaschen auf. Von den Reagenzien müssen Kupfersulfat, Seignettesalz und konz. Schwefelsäure analysenrein, Natriumhydroxyd mit Alkohol gereinigt sein. Statt Ferrisulfat verwendet man Eisenalaun krist.chemisch rein. Um hier vor Unannehmlichkeiten geschützt zu sein, gebraucht man Merck'sche Präparate. Man hat nun folgende

---

13) J.pr. 21, 227 (1880).

Lösungen herzustellen:

1) 10 gr Kupfersulfat krist. in 1 Liter dest.Wasser (20ccm)
2) 200 gr Seignettesalz " " 0,5 " " " (10ccm)
3) 150 gr Natriumhydroxyd in 0,5 Liter " " (10ccm)
4) 120 gr Eisenalaun krist. + 200 gr konz.Schwefelsäure in 1 Liter dest.Wasser.
5) 5 gr Kaliumpermanganat in 1 Liter dest.Wasser oder besser 5 gr Kaliumpermanganat in 3 Liter dest.Wasser.

Die 3 ersten Lösungen sind möglich genau zusammenzusetzen. Eine gute Wage und ein Messkolben sind dazu erforderlich. Die zeitliche Fertigstellung aller Flüssigkeiten lässt sich durch Erhitzen und Abkühlen erheblich verkürzen. Besonders rasch wird die Konstanz der Permanganatlösung erreicht durch einstündiges Kochen mit etwas mehr Wasser als angegeben und heissem Filtrieren durch ein Glasfilter (5-7) oder durch Asbest unter gelindem Saugen in die vorgewärmte Vorratsflasche. Um ein Abhandenkommen, ein Beschädigen, ein Verwechseln und ein Beschmutzen der für die Zusammensetzung der Oxydationsflüssigkeit notwendigen Pipetten möglichst zu vermeiden, werden die Pipetten als Stöpsel der Vorratsflaschen verwendet. Dieses ist folgendermassen zu bewerkstelligen: Durch die Bohrungen eines jeweils passenden Gummistopfens werden 2 Glasrohre eingeführt. Die Weite eines Glasrohres muss ein leichtes Einführen des unteren engen Teiles der in Betracht kommenden Pipette gestatten, die Länge muss so beschaffen sein, dass beim Aufsetzen des Gummistopfens auf den Flaschenhals ein Abstand von 0,5 bis 1,0 cm des Auslaufes der Pipette vom Boden der Flasche gewahrt ist. Glasrohr und Pipette werden auf einander etwas eingeschliffen. Die Pipette wird durch eine nicht zu fest sitzende Gummikappe aus Schlauch und Glasstab verschlossen. Das andere Glasrohr darf nicht in die Flüssigkeit eintauchen. Das obere Ende wird nach unten gebogen und mittels Schlauch und Quetschhahn verschliessbar gestaltet. - Beim Ansaugen der Flüssigkeit und Ablaufen derselben bis zur Marke der

Pipette ist der Quetschhahn zu öffnen. Sind die Lösungen längere Zeit hindurch nicht benötigt worden, so sind die Pipetten vor Gebrauch mit etwas Flüssigkeit auszuspülen. Die Spülflüssigkeit ist wegzugiessen.

Die Heizung. Die Angabe einer Kochdauer von 3 Min. ist ungenau. Die Oxydation setzt unterhalb 65°C ein und daher ist auch die Anheizperiode zu berücksichtigen. Es wird bei langer Anheizdauer ein höherer Wert gefunden als bei einer kurzen. Doch kann man auch bei sehr raschem Anheizen zu einem höheren Resultat gelangen, wenn die Heizquelle und das Kochgefäss so beschaffen sind, dass eine grosse Überhitzung eintritt. Es findet dann eine grössere Oxydation des Seignettesalzes statt. Die Bedingung der Genauigkeit erfordert neben der strikten Durchführung der Kochdauer eine immer gleiche Anheizperiode. Weiter muss auch die Änderung der Konzentration der Oxydationsflüssigkeit während der Kochdauer immer eine gleiche sein und sie darf einen gewissen Wert nicht überschreiten. Wird nämlich die Konzentration zu hoch, so ist die Oxydation des reduzierenden Zuckers infolge der Verschiebung der Reaktionen nicht so gleichmässig zu leiten. Weiter macht sich der störende Einfluss des Seignettesalzes stärker bemerkbar, die Unterbrechung ist daher eine nicht so genaue. Die Genauigkeit verlangt eben bei der Oxydation eine scharf regulierbare Heizquelle. Als solche hat sich ein kleines elektrisches Heizgitter (110 Volt 6 Ampere, Grösse 15 x 25 cm), welches von der Firma Bender und Hobein, München, geliefert wurde, bewährt. Der weitere Vorteil dieses Heizgitters liegt darin, dass man ohne jegliche Regulierung anheizen und kochen kann, was andererseits wieder die Eigenschaft der Oxydationsmöglichkeit und Oxydationsbedingung gegen geringe Änderungen unempfindlich zu sein, zulässt. Das Heizgitter wird

mittels zweier passender Schraubenzwingen unter Zwischenschalten einer passenden Schamotteplatte mit aufgelegter Asbestplatte als Unterlage auf der Bodenplatte eines Stativs einseitigt befestigt. Heizgitter und Schraubenzwingen sind oben durch einen schmalen aufgelegten Asbeststreifen von einander getrennt. Damit das Aufsetzen des Kochgefässes immer auf den gleichen Platz des Heizgitters erfolgt, wird am Stativ ein Ring von passender Weite so befestigt, dass derselbe auf dem schmalen Asbeststreifen aufzuliegen kommt. Ein Kontakt zwischen Ring und Gitter darf nicht bestehen. Über die blanken Zuleitungsdrähte werden Glasrohre gezogen. Es emphiehlt sich zum Ein- und Ausschalten des Stromes ein Lichtschalter anzubringen, da ein Steckkontakt nach öfterem Gebrauch infolge schlechter Verbindung ein Durchbrennen der Sicherung veranlassen kann. Das Heizgitter ist 10 Min. vor Gebrauch einzuschalten, damit eine Durchwärmung der Unterlage erfolgt und darf nicht zu anderen Zwecken benutzt werden. Bei einigermassen sorgfältiger Behandlung hat dasselbe eine grosse Lebensdauer.

Da das Auftreten von Blasen, namentlich in Gegenwart von störenden und nichtstörenden Stoffen mit der Kochtemperatur zeitlich nicht immer zusammenfällt und die Konstanz der Heizquelle eine sehr gute ist, wird die Zeit des Aufsetzens des Kochgefässes auf das Heizgitter genommen. Die Reaktionsdauer setzt sich dann aus der Anheizperiode und der Kochdauer von 3 Min. zusammen. Die Anheizperiode geht bis 100°C und wird durch einen Normalversuch mit eingeführtem Thermometer, das nicht auf den Boden des Kochgefässes aufsitzen darf, bestimmt. Da dieselbe auch von der Beschaffenheit des Kochgefässes abhängig ist, muss immer das gleiche Gefäss genommen werden. Die Anheizperiode muss bei

dieser Heizquelle zwischen 2 3/4 und 3 ½ Min. liegen. Ein Überschreiten liefert zu hohe Resultate, eine kürzere Heizdauer führt zu einer ungünstigen Konzentration. Die Zeitdauer ist bei einem neuen Heizgitter öfters nachzuprüfen. Treten hierbei oder überhaupt erhebliche Unterschiede auf, so trägt die Schuld nicht das Heizgitter, sondern eine unregelmässige Stromzufuhr ist dafür verantwortlich zu machen.

Weitere Apparatur und Anordnung. Der unscharfe Erkennungspunkt bei der Titration ist durch einen erheblichen Überschuss der Ferrisulfat-Schwefelsäure bedingt. Dominiert nämlich die gelbe Farbe nach beendeter Oxydation des Ferrosulfates, so muss über eine Reihe Grün, aus Gelb und Violett entstanden, nach einer Reihe Violett ohne scharfen Farbumschlag titriert werden. Das Gelb des Lösungsmittels ist so stark, dass 5 ccm desselben mit fast 200 ccm Wasser verdünnt werden müssen, um praktisch Farblosigkeit zu erzielen. Das intensive Violett des Permanganat (5:3) erlaubt jedoch eine Anwesenheit von 20 ccm Ferrisulfat-Schwefelsäure in 140-180 ccm Flüssigkeit. Dies gilt nur bei Zimmertemp. In der Wärme ist das Verhältnis infolge der leichten Dissoziation des Ferrisulfats sehr viel ungünstiger. Diese Grenzen sind unbedingt einzuhalten. Die 20 ccm Lösungsmittel sind meist sehr reichlich. Theoretisch werden für 90 mg Glukose 9,8 ccm Ferrisulfat-Schwefelsäure gebraucht. Andererseits wird durch zu grosses Verdünnen der zu titrierenden Flüssigkeit die Farbkraft des Permanganats zu sehr geschwächt. - Die Notwendigkeit einer sparsamen Verwendung des Lösungsmittels veranlasst ein Entnehmen desselben aus einer kleinen Spritzflasche mit nicht zu grosser Spritzöffnung und beweglichem Mundstück. - Der Anreiz und sehr oft auch die Notwendigkeit, die zu einem

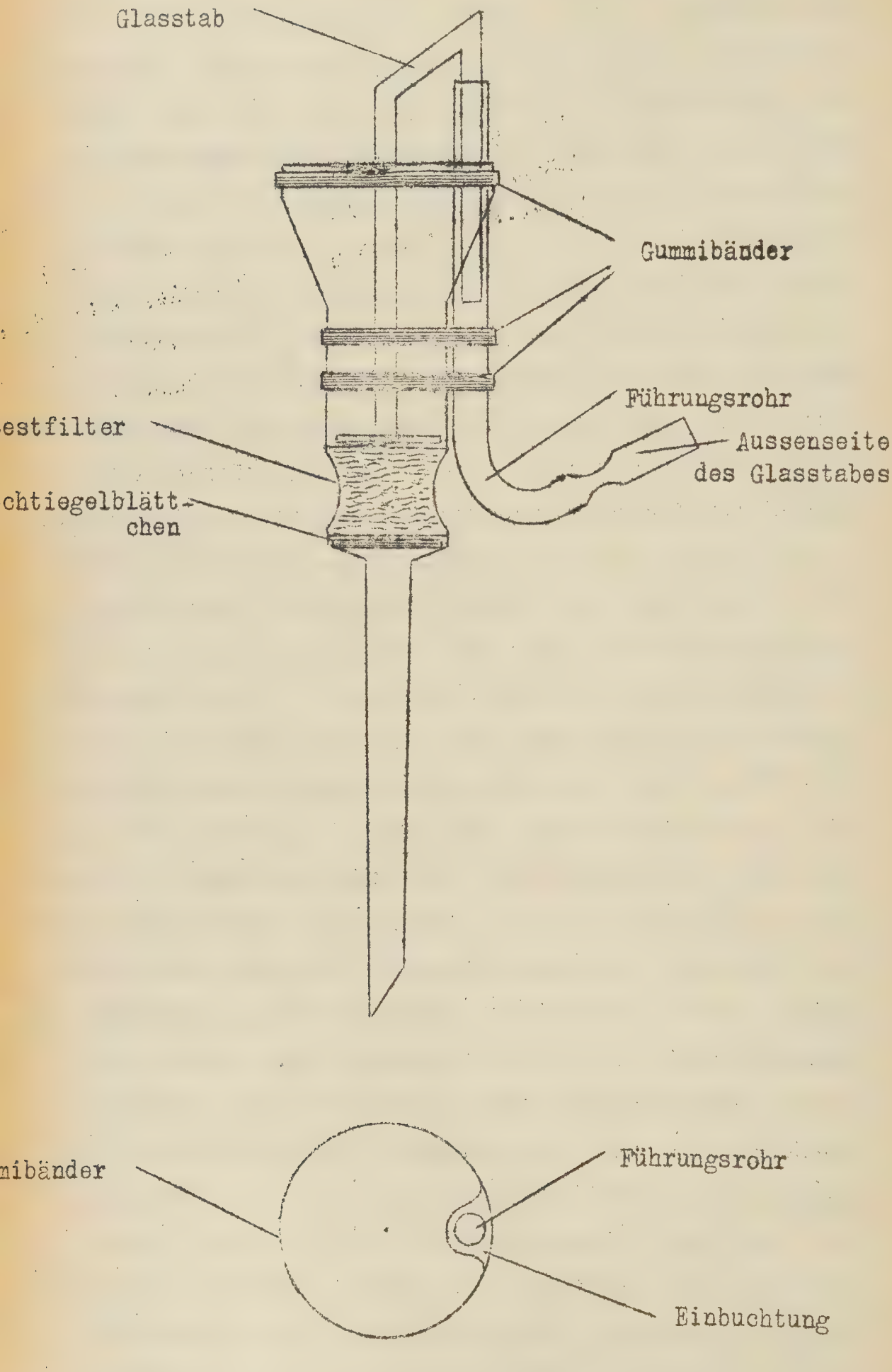
Überschuss von Lösungsmittel führen, werden dadurch gegeben, dass bei Anwesenheit störender Stoffe das Kupferoxydul meist so fein verteilt ausfällt und beim Filtrieren zum grossen Teil auf das Filter gelangt, wo es sich festsetzt und zusammenbackt, und daher bei Zugabe der erforderlichen Menge Ferrisulfat-Schwefelsäure nicht mit der wünschenswerten oder nötigen Schnelligkeit gelöst wird. Diesem Übelstand helfen die aufgezeichneten Apparaturen ab. Die Maße und die Form sind strikte einzuhalten. Wie diese Apparaturen den Übelstand vermeiden oder beseitigen und zu handhaben sind, wird bei der Durchführung beschrieben. Welche Apparatur man anwendet, ist jedem einzelnen überlassen. Es sei hier zur Orientierung gesagt, dass bei der Verwendung des Glasfilterkolbens neben sehr bequemer Arbeitsweise ein Zeitgewinn von etwa 10 Min. erzielt wird und, da sämtliche Operationen, Kochen, Filtrieren, Auswaschen, Lösen, Nachwaschen und Titrieren keinen Gefäßwechsel erfordern, ein möglicher Verlust durch Verspritzen von Kupferoxydul und Flüssigkeit vermieden wird. Diesem Vorteil steht allerdings der Nachteil gegenüber, dass, abgesehen von den weniger ins Gewicht fallenden einmaligen höheren Gestehungskosten der Apparatur selbst, infolge der heissen Lauge das Glasfilter einem grossen Verschleiss unterworfen ist. Eine klare Überlegenheit besteht erst beim Ersatz des Glasfilters durch ein Asbestfilter. Dies scheint nicht unmöglich zu sein. Probierversuche in dieser Hinsicht sind nicht gemacht worden. Immerhin lassen sich je nach Güte des Filters 50 bis 100 und noch mehr Bestimmungen durchführen. -

Was das Asbestfilter der Apparatur I anlangt, so wird dasselbe durch schichtweises Auftragen des wie üblich vorbehandelten Asbest und unter Stampfen mit einem gewöhnlichen Glasstab hergestellt. Das Filter darf nicht zu dicht aus-

fallen, da sonst das Alkali und auch die Säure durch das kurze Waschen aus dem Asbest nicht restlos entfernt werden. Es darf aber auch nicht zu locker sein, da sonst beim Saugen das Kupferoxydul nicht restlos zurückgehalten wird. Eine gute ⅛ Umdrehung des Wasserhahnes der Saugpumpe muss ein Ablaufen der heissen Lauge teils in Tropfen, teils in einem Strahl bewirken. Zur Prüfung dieser Eigenschaft dient der Versuch zur Bestimmung der Anheizperiode. - Da ein wechselnder Wasserdruck und eine mehr oder minder grosse stetige Zunahme des Kupferoxyduls auf den Filter diesen gewünschten Ablauf der Lauge und auch des Waschwassers bei einer und derselben Hahnstellung nicht immer zulassen, andererseits, abgesehen von der meist unbequemen Entfernung des Wasserhahnes, bei der geringen Saugwirkung eine feine Regulierung durch diesen Wasserhahn sehr schlecht möglich ist, wird folgende Anordnung getroffen: Nahe der WULFF'schen Flasche wird in die Saugleitung ein T-Stück eingesetzt. Die auf diese Weise herzustellende Abzweigung trägt an ihrem Ende einen Glashahn. Über den am Ende rund geschmolzenen kurzen freien Hahnfortsatz wird ein querdurchbohrter Kork gezogen. Der Kork wird mittels einer Holzschraube auf dem Tische befestigt. - Je nach dem man die Hände frei hat, reguliert man das Ablaufen entweder durch Schliessen oder Öffnen des Glashahnes oder durch Auflegen bezw. Entfernen des Daumens auf das offene Ende des Hahnfortsatzes bei geöffneter Hahnstellung. - Beim Arbeiten mit dem Asbestfilterrohr hat die Oxydation des reduzierenden Zuckers in einem Jena-Erlenmeyer 150 ccm stattzufinden. Weiter werden noch 2 Saugflaschen mit gleicher Halsweite von je ¼ Liter Inhalt benötigt. Die Titriersaugflasche und ebenso der Glasfilterkolben tragen 2 Marken, um das geforderte Volumen der Flüssigkeit einhalten zu können. Der Glasfilterkolben erfordert eine Saugflasche mit einer Halsweite wie die des Glasfilterkolbens selbst. Der Saugansatz

Asbestfilterrohr.

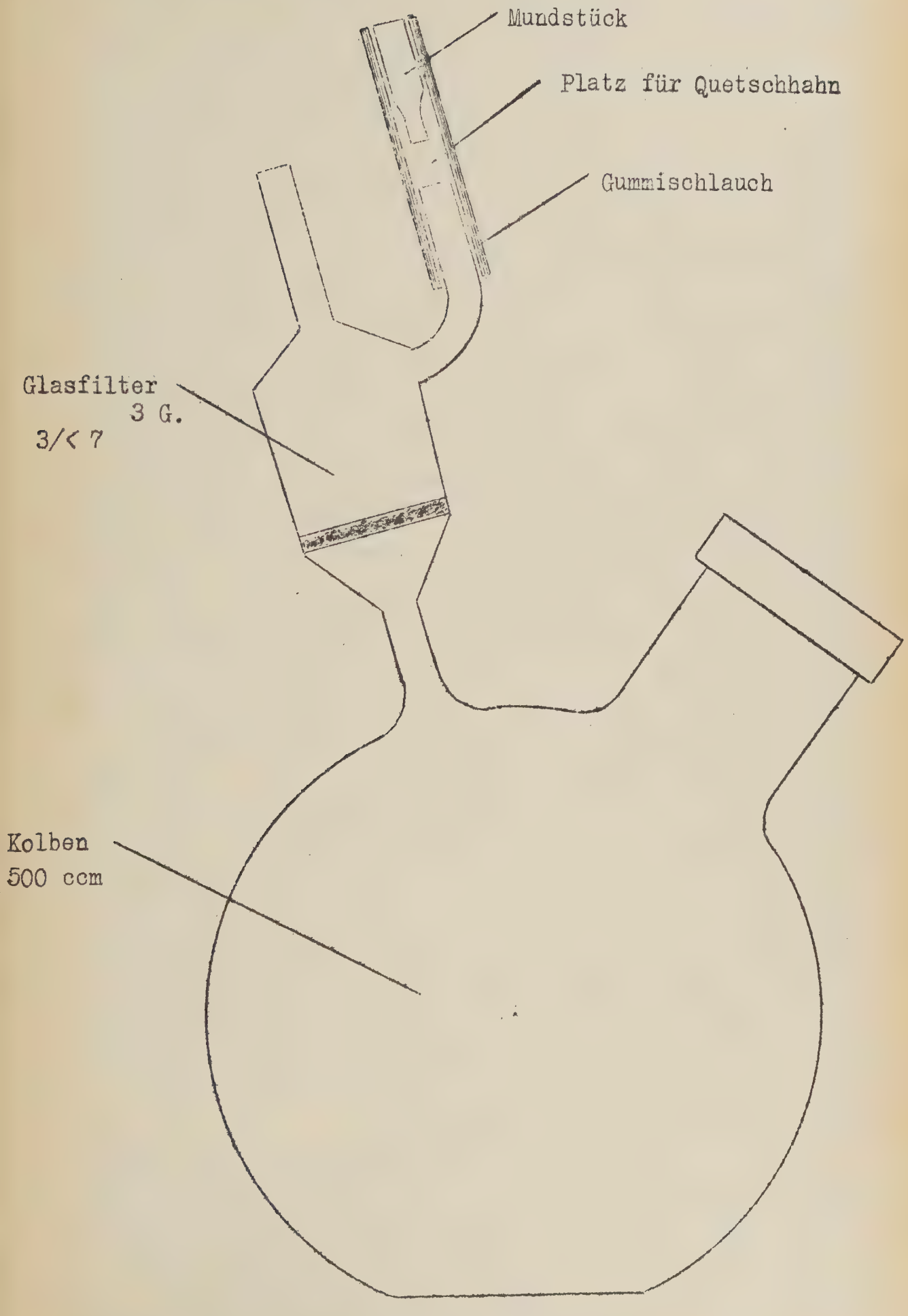
(natürliche Grösse).



Apparatur Nr.I.

Glasfilterkolben.

(natürliche Grösse)



Apparatur II.

trägt einen Saugschlauch von etwa 20 cm Länge. Die filtrierte Lauge gelangt beim Glasfilterkolben durch den Saugansatz in die Flasche.

Die Durchführung. Bei Anwendung des Asbestfilterrohres gestaltet sich die Durchführung einer Bestimmung folgendermassen: 20 ccm Kupfersulfat, 10 ccm Seignettesalz, 10 ccm Lauge und 20 ccm der zu bestimmenden Zuckerlösung werden in den Erlenmeyer abpipettiert. - Die Zuckerlösung darf nicht mehr als 90 mg und nicht weniger als 10 mg reduzierenden Zucker enthalten. Müssen 20 ccm Zuckerlösung selbst genommen werden, so ist, da ein Herunterspülen derselben von der Wandung des Kolbens mit Wasser nicht möglich ist, die bei der Oxydation am wenigsten beteiligte Seignettesalzlösung als Spülflüssigkeit zu verwenden. Vor dem Aufsetzen des Erlenmeyers auf das Heizgitter sind die Bestandteile der Flüssigkeit gut durchzumischen. Der Kolben darf nicht ungelöstes Kupferoxydhydrat enthalten. Nach dem Kochen lässt man das ausgeschiedene Kupferoxydul bei schräg gelegtem Erlenmeyer, was mittels eines passenden Kork- oder Strohringes zu bewerkstelligen ist, 1 Min. lang absitzen und giesst nicht nur hier, sondern immer über die gleiche Stelle des Kolbens die Lauge durch Anlegen des Erlenmeyers an den Glasstab in das Filtrierrohr. Zur gleichen Zeit wird mittels des Daumens der freien Hand ein Ablaufen der Flüssigkeit mit der wünschenswerten Schnelligkeit bewirkt. - Das Filter ist nicht voll zu giessen, sondern das Niveau der einzufüllenden Lauge liegt 1½ bis 2,0 cm unter dem Rande des Rohres. -

Ist die Lauge auf diese Art und Weise aus dem Erlenmeyer entfernt worden, so wird der Niederschlag durch dreimaliges Dekantieren mit jeweils 40-50 ccm warmem, nicht kochend heissem Wasser ausgewaschen. Das Zugeben des Waschwassers und später auch der Ferrisulfat-Schwefelsäure.

geschieht durch Anlegen und Herumführen des Spritzstückes bzw. der Spritzflasche am oberen Ende des Erlenmeyers ohne den Versuch zu machen das am Rande selbst haftende Kupferoxydul herunterzuspülen. Zur Vermeidung eines Trockensaugens ist bei einer jeweiligen Zugabe von Flüssigkeit in den Erlenmeyer der Ablauf im Filtrierrohr zu unterbrechen. Das Abgiessen des Waschwassers vom Niederschlag in das Filter hat erst dann zu erfolgen, wenn die Lauge bzw. die vorhergehende Waschflüssigkeit daselbst nahezu entfernt sind.- Ist das Auswaschen des Niederschlages im Erlenmeyer beendet, so wird das dort befindliche Kupferoxydul mit einer möglichst geringen Menge von Ferrisulfat-Schwefelsre. unter Umschütteln gelöst. Nach dieser Operation wird weitergesaugt und während des Ablaufens der Waschflüssigkeit das am Glasstab und an der Wandung des Filters haftende Kupferoxydul, so weit es sich entfernen lässt, heruntergespült. Nach fast restlosem Ablaufen der Waschflüssigkeit wird das Filter nach Abspülen seines Ablaufrohres auf die Titrierflasche gesetzt und die Lösung aus dem Erlenmeyer eingefüllt. - Hier und auch weiterhin hat zwecks Lösung des noch am Glasstabe sitzenden Kupferoxyduls und Abspülens der Flüssigkeit daselbst das Ansetzen des Erlenmeyers an den Glasstab weiter oben wie vorher zu erfolgen.- Man bewegt jetzt nun den Glasstab durch Anfassen an seiner Rundung in seiner Führung auf und ab, die oberste Asbestschicht, auf und in der das Kupferoxydul festsitzt, wird aufgewirbelt und ein fast schlagartiges Lösen des Kupferoxyduls bei geringem Überschuss von Ferrisulfat-Schwefelsäure tritt ein. Durch Zusatz von kaltem Wasser wird die Flüssigkeit bis fast zum Rande aufgefüllt und dieselbe durch weiteres Bewegen des Glasstabes mit dem Wasser vermischt. Dadurch wird das noch an der oberen Wandung hängende Kupferoxydul gelöst.- Der Glasstab wird dann herausgenommen und nach Abstreifen der anhaften-

den Flüssigkeit im Erlenmeyer auf das gebogene Ende seines Führungsrohres gesteckt. Die Lösung des am Rande des Erlenmeyers sitzenden Kupferoxyduls wird jetzt durch vorsichtiges Eintauchen des Halses des Kolbens in die aufgefüllte Lösungsflüssigkeit und durch Hin- und Herdrehen daselbst bewirkt. Während dem nun einzusetzenden Saugen wird der Erlenmeyer ohne Anwendung des Glasstabes durch aussenseitiges Abspritzen bei hochgehaltenem Boden abgespült. Bei dem jetzigen Auswaschen des Kolbens und des Filters wird, nachdem mit etwas Ferrisulfat-Schwefelsäure + kaltem Wasser nachgespült ist, wie beim Vorhergehenden verfahren, mit dem Unterschied, dass hier kaltes Wasser verwendet und scharf abgesaugt wird. Der Glasstab wird nach Gebrauch und Abstreifen aussen aufgesteckt und gelangt erst nach dem Herunterspülen der Asbestteilchen auf seinen alten Platz. Nach Spülen des Ablaufrohres und wenn nötigem Auffüllen des Volumens der Flüssigkeit wird in der üblichen Weise auf Rosa titriert.- Bei der Anwendung des Glasfilterkolbens ist das inbezug auf Zusammensetzung der Reaktionsflüssigkeit, Zugabe von Flüssigkeit, Unterbrechen des Saugens und Auswaschen Vorhergesagte sinngemäss anzuwenden. Die Durchführung oder vielmehr die Handhabung sieht hier so aus: Nach dem Kochen wird ohne Absitzenlassen das Glasfilter mit dem Schlauch der Saugflasche verbunden und durch entsprechendes Neigen des Kolbens die Lauge auf das Filter gebracht und abgesaugt.- Infolge der grösseren Dichte des Filters kann hier ein rascheres Durchlaufen stattfinden. Bis zum Lösungsvorgang wird der Ablauf der Flüssigkeiten durch Öffnen und Schliessen des am Glasfilter angebrachten Quetschhahnes reguliert, die Unterbrechung durch Aufsetzen des Quetschhahnes auf das breitgedrückte Glasrohr bewirkt.- Nach Ablauf der Lauge werden zum Entfernen der im Filter festsitzenden alkalischen Kupfersulfatlösung 5 bis 10 ccm einer warmen wässerigen Glycerinlösung(1:1)

hinzugegeben und durch das Filter gesaugt. Ist das Auswaschen beendet, so wird die Verbindung des Glasfilters mit dem Schlauch gelöst und der Ablaufraum aus- und abgespült. Der Kolben ist dann auf einen passenden Kork- oder Strohring zu legen. Bei hochgestelltem Glasfilter werden nun durch das Ablaufrohr 10-15 ccm Ferrisulfat-Schwefelsäure eingefüllt. Der den Saugschlauch tragende Gummistopfen wird bei jetzt geöffnetem Glashahn abgespritzt und auf den Kolbenhals gesetzt.- Das Rasche Entfernen bezw. Lösen des auf dem Filter haftenden Kupferoxyduls wird hier durch ein entgegengesetztes Durchlaufen des Lösungsmittels wie auch der Spülflüssigkeit bei einer doppelt so starken Saugwirkung bewerkstelligt.- Der Wasserhahn der Saugpumpe wird um dasselbe Stück weiteraufgedreht, der Glashahn geschlossen und unter Herumschwenken des Kolbens die Ferrisulfat-Schwefelsäure scharf abgesaugt. Nach vollständiger Lösung des Kupferoxyduls im Kolben, Nachspülen, Auswaschen und wenn nötigem Auffüllen wird durch den Kolbenhals auf Rosa titriert.- Die Tabellen findet man in den einschlägigen Lehrbüchern.

Ersatz des Seignettesalzes durch Glycerin bei der Zuckerbestimmung nach MOHR-BERTRAND.

J.LÖWE[14)] empfiehlt das Seignettesalz durch Glycerin zu ersetzen. Eine Übertragung auf die MOHR-BERTRAND'sche Methode hat jedoch nicht stattgefunden. Diese Übertragung ist gemacht worden und soll hier festgelegt werden.

Da die alkalische Kupferglycerinlösung beim Kochen im Vergleich zur alkalischen Kupferseignettesalzlösung sehr leicht zersetzlich ist, musste vorerst geprüft werden, wie weit mit dem Glyceringehalt herabgegangen werden kann, ohne

---

14) F. 9, 20 (1870).

dass eine Ausscheidung von Kupferoxydhydrat während der 3 Min. langen Kochdauer stattfindet. Es hat sich ergeben, dass eine 20 proz. alkalische Glycerinlösung die unterste Grenze ist. Die nachstehend aufgeführten Versuche zeigen nun die Gleichwertigkeit der 20 proz. alkalischen Glycerinlösung (150 gr Natronlauge + 200 ccm Glycerin, D.A.B. 5, auf 1 Liter) inbezug auf Genauigkeit bei Abwesenheit störender Stoffe. Beim Vergleichen der gef. Zuckerwerte mit der BERTRAND'schen Tabelle bezw. der mit Fehling'scher Lösung erhaltenen Werte ergibt sich, dass das Glycerin eine Vergrösserung des Reduktionsvermögens bedingt und zwar sind die Zunahmen lineare Funktionen von den angewandten Mengen Zucker. Weiterhin erkennt man, dass der Faktor, mit welchem man die BERTRAND'schen Tabellenwerte multiplizieren muss, um bei Anwendung von Glycerin den wahren Wert zu erhalten, für Glukose, Galaktose, Maltose und Invertzucker einen und denselben Wert besitzt, nämlich + log. 0,98297 . Daraus ergibt sich folgende Berechnungsmethode für die Zuckerbestimmungen mit Glycerinlösung: Man rechnet nach BERTRANDs Tabellen den Zuckerwert aus und multipliziert den gefundenen Zuckerwert mit 0,9615 .

Versuche.

Zuckerart	Komplex-haltendes Mittel	ccm Permanganat	gef.Menge Zucker in mg ber.n. BERTRAND	gef.Menge Zucker x Glycerin-fakt.i.mg	angew.Menge Zucker in mg
Glukose (Merck, purissime)	Seignette-salz	30,47 30,45 30,45	50,0	-	50,0
	Glycerin	6,75 6,80 6,75	10,4	10,0	10,0
	"	19,52 19,50	31,2	30,0	30,0
	"	31,52 31,52	51,9	50,0	50,0

Zuckerart	Komplex-haltendes Mittel	ccm Permanganat	gef.Menge Zucker in mg ber.n. BERTRAND	gef.Menge Zucker x Glycerinfakt.i.mg	angew.Menge Zucker in mg
	Glycerin	42,90 (42,82) 42,92	72,8	70,0	70,0
	"	53,53 53,50	93,6	90,0	90,0
Maltose (Merck, purissime)	Seignette-salz	17,56 17,53	50,0	-	50,0
	Glycerin	3,72 3,70	10,4	10,0	10,0
	"	11,03 10,98 11,00	31,2	30,0	30,0
	"	18,23 18,23	52,0	50,0	50,0
	"	25,40 25,42	72,8	70,0	70,0
	"	32,52 32,50	93,6	90,0	90,0
Galaktose (Merck, purissime)	Seignette-salz	29,10 29,10	50,0	-	50,0
	Glycerin	6,40 (6,25) 6,42	10,4	10,0	10,0
	"	18,60 18,57	31,2	30,0	30,0
	"	30,20 30,20	52,0	50,0	50,0
	"	41,40 41,42	72,8	70,0	70,0
	"	52,18 52,20	93,6	90,0	90,0
Invert-zucker (Merck, purissime)	Seignette-salz	30,45 30,48	50,0	-	50,0
	Glycerin	6,83 6,85	10,4	10,0	10,0
	"	19,60 19,60	31,2	30,0	30,0
	"	31,55 31,55	52,0	50,0	50,0
	"	42,70 42,70	72,8	70,0	70,0
	"	53,20 53,20	93,6	90,0	90,0

Die im Vergleich zum Seignettesalz geringe Kochbeständigkeit (nach 6½ Min. Kochdauer beginnt die Ausscheidung von schwarzem Kupferoxyd) spielt keine Rolle, wohl aber die Beständigkeit beim Aufbewahren der Lösung. Hier ist das Glycerin dem Seignettesalz, dessen Hydroxyle durch benachbarte Karbonyle aktiviert sind, vorzuziehen. Damit dürfte auch infolge der dadurch bedingten grösseren Affinität zum Kupferoxyd die geringere Oxydationsfähigkeit des letzteren zurückzuführen sein, ebenso der hellere Farbton der Seignettesalzlösung. Die tiefblaue Lösung bei Verwendung von Glycerin wird auch durch einen noch so grossen Überschuss an Glycerin nicht merklich verändert. Auffallend ist weiter die Beschaffenheit des ausgefällten Kupferoxyduls. Dieses ist bei Anwendung von Glycerin heller gefärbt und, wie die Farbe schon verrät, feinkörniger, und ruft beim Verarbeiten denselben Übelstand hervor wie bei Anwesenheit störender Substanzen bei der Seignettesalzmethode. Ob darin eine Überlegenheit gegenüber dem Seignettesalz liegt, kann nichts Bestimmtes gesagt werden. Jedenfalls ist bei Anwesenheit störender Stoffe die grössere Beständigkeit und der neutralere Komplexcharakter des Glycerins kein Nachteil, sondern eher ein Vorteil. Was die Billigkeit betrifft, so ist die Verwendung von Glycerin entschieden vorteilhafter.

ÜBER DIE EINWIRKUNG VON PANKREASEXTRAKT UND MUSKELPLASMA AUF GLUKOSE.

P.A.LEVENE und G.M.MEYER[15] berichten über die Einwirkung von Pankreasextrakt und Muskelplasma auf Glukose. Sie erhalten nach einer Einwirkungsdauer von mehreren Stunden eine Abnahme des Reduktionsvermögens der zugesetzten Glukose bei nachstehend beschriebener Bereitung des Muskelplasmas und Pankreasextraktes:

> Verblutete Kaninchen, welche 3 Tage vor dem Schlachten gehungert haben, werden sorgfältig von Haut, Knochen und Bindegewebe befreit. Das Fleisch wird in einer Fleischmaschine zerkleinert und gewogen. Man fügt das gleiche Gewicht 1 %ige Phosphatlösung (9 Teile Dinatriumphosphat + 1 Teil Mononatriumphosphat) hinzu. Wenn die Phosphatlösung noch sauer reagiert, gibt man noch sekundäres Phosphat hinzu bis Lakmus eben alkalisch reagiert. Man lässt die Mischung aus zerkleinertem Fleisch und Phosphatlösung 1 Std. bei $+1^{0}$ C stehen. Dann wird durch ein Leinen kolliert, der möglichst trockene Rückstand mit Seesand verrieben und in der Buchnerpresse bei 300 Atm. ausgepresst. Alle Flüssigkeiten werden vereinigt. - Die frische Pankreasdrüse wird erstmals mit Wasser, dann mit Alkohol ausgekocht. Die filtrierten Auszüge werden vereinigt und auf dem Wasserbad zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird mit wenig Wasser aufgenommen.

Die Verfasser sagen weiter noch aus, dass die Isolierung des gebildeten Reaktionsproduktes nach der Methode, mit welcher E.FISCHER Isomaltose isoliert hat, gelungen ist. Eine Untersuchung des Reaktionsproduktes hat nicht stattgefunden. Diese Untersuchung sollte hier erfolgen.

Da nun die Ausbeute, welche nach P.A.LEVENE und G.M.MEYER durch eine Abnahme von ca. 2 % Glukose bei einem Vorliegen einer 20 %igen Glukoselösung ausgedrückt wird, eine sehr kleine ist, war zu prüfen, ob die Ausbeute verbesserungsfähig ist. Andererseits wurde aus Gründen, welche die Billigkeit betreffen, zuerst geprüft, ob ein Ersatz

---

15) Journ.of Biol.Chem. 9, 97 (1911) u. 11, 353 (1912).

des Kaninchenfleisches durch Kalb- oder Rind- oder Ochsenfleisch und weiter die Verwendung von Pankreaspulver von Schweinsdrüsen, hergestellt nach R.WILLSTÄTTER[16] (Entfetten der die Fleischmaschine passierten Drüsen mit Äther und Aceton, Trocknenlassen an der Luft, Zermahlen in der Targomühle und Sieben durch ein feines Drahtnetz) anstelle der frischen Pankreasdrüsen zulässig ist.

Versuche.

Die Bestimmung des Reduktionswertes der vorhandenen Glukose geschah mittels der MOHR-BERTRAND'schen Methode. Sämtliche zu den Versuchen benötigten Gefässe und Gegenstände, soweit nötig auch die Reagenzien, wurden mit Toluol-Chloroform sterilisiert. Die Versuche selbst liefen unter Toluol-Chloroform. Zu der tabellarisch durchgeführten Versuchsbeschreibung muss gesagt werden, dass eine vorkommende Wiederholung einer Komponente ausgedrückt wird durch die Nummer des Versuches, bei welcher die anzuführende Komponente erstmals zu finden ist. Ferner ist zu erklären, dass die innerhalb der mit eingeklammerten fortlaufend nummerierten römischen Ziffern versehenen Versuche (Serienversuche) wiederholt vorkommende Komponenten auch inbezug auf Qualität mit einander übereinstimmen. Demnach sind derart gekennzeichnete Versuche inbezug auf die dort vorhandenen nicht gleichartigen Komponenten durchaus vergleichbar (Die Zeitdifferenzen, welche bei einem serienmässigen Ansetzen der Versuche eben nicht zu vermeiden sind und von Versuch zu Versuch etwa 35-40 Min. betragen, dürften die Güte des mit Toluol-Chloroform konservierten und gekühlten Muskelplasmas wohl kaum beeinflussen). Zur Beurteilung der gefundenen Reduktionswerte ist zu sagen, dass bei der Bestimmung des Reduktionswertes in erhöhtem Maße störende

---

16) H. 125, 150 (1923).

Stoffe, namentlich Eiweiss, anwesend sind, welche eine überaus vorsichtige Bewertung der gefundenen Resultate bedingen. Da hier nun neben einer Gleichheit der Reduktionswerte Zunahmen bis zu 0,6 % Glukose zu beobachten waren, so liegen gefundene Abnahmen bis zu 0,6 % Glukose innerhalb der Fehlergrenze.

1.Versuch.

Pankreas: Trockenpulver nach R.WILLSTÄTTER[16], Schweinsdrüsen.
Pankreasextrakt: nach R.WILLSTÄTTER [17].
Fleisch: Kalbfleisch, Bugstück, 3 Tage alt.
Muskelplasma: nach P.A.LEVENE.
Glukose: Merck, purissime, für Infusionen, wasserfrei.
Phosphatpuffer: nach SÖRENSEN (Kahlbaum) 1 %ige Lösung, p_H= 7,
Temperatur: Zimmertemperatur.
Ansatz: ca.15 gr Glukose + 10 ccm Pankreasextrakt + 40 ccm Plasma (1 % Phosphat).

Zeit in Std	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	5 auf 100 davon 5 = 0,25	13,40	136,3	74,0	29,6
20	"	13,35	135,7	73,6	29,4
42	"	13,55	137,8	74,9	30,0

2.Versuch.(I)

Pankreas: wie 1.
Pankreasextrakt: alkalischer Auszug; 3 gr Trockenpulver + 5 ccm Toluol wurden mit 50 ccm Wasser, das mit 3 Tropfen einer 20 %igen Sodalösung versetzt wurde, 24 Stdn. geschüttelt, filtriert und auf Lakmus mit Salzsäure neutralisiert.
Fleisch: Kalbfleisch, Nußstück, frisch geschlachtetes.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 1.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: 10 ccm 60 %ige Glukoselösung (1 % Phosphat) + 10 ccm Pankreasextrakt + 10 ccm Plasma.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	9,40	95,6	50,1	20,0
21	"	9,45	96,1	50,4	20,2
40	"	9,50	96,6	50,7	20,3

16) H. 125, 150 (1923). 17) H. 125, 152 (1923).

3.Versuch (II).

Pankreas: wie 1.
Pankreasextrakt: saurer Auszug; statt Sodalösung wurden 3 Tropfen einer 10 %igen Salzsäure verwendet, sonst wie bei 2 (Neutralisation mit Soda).
Fleisch: wie 2.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 1.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: wie 2.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	9,40	95,6	50,1	20,0
21	"	9,40	95,6	50,1	20,0
40	"	9,48	96,4	50,6	20,2

4.Versuch (III).

Pankreas: wie 1.
Pankreasextrakt: neutraler Auszug; nur mit Wasser ausgeschüttelt, sonst wie bei 2.
Fleisch: wie 2.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 1.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: wie 2.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	9,40	95,6	50,1	20,0
21	"	9,40	95,6	50,1	20,0
40	"	9,40	95,6	50,1	20,0

5.Versuch (IV).

Pankreas: wie 1.
Pankreasextrakt: alkalischer Auszug; statt 50 ccm Wasser werden 50 ccm abs.Alk.verwendet, sonst wie bei 2, das Filtrat wurde jedoch zur Trockene eingedampft (Wasserbad) und der Rückstand mit 50 ccm 1 %iger Phosphatlösung (p_H = 7,0) aufgenommen.
Fleisch: wie 2.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 1.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: wie 2.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	9,40	95,6	50,1	20,0
21	"	9,35	95,1	49,8	19,9
40	"	9,45	96,1	50,4	20,2

6.Versuch (V).

Pankreas: wie 1.
Pankreasextrakt: wie 1.
Fleisch: wie 2.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 1.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: wie 2 und Zusatz von 0,030 gr Insulin (Organon Ost, 2,02 gr = 3000 klinische Einheiten).

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	9,40	95,6	50,1	20,0
21	"	9,40	95,6	50,1	20,0
40	"	9,45	96,1	50,4	20,2

7.Versuch (IV).

Pankreas: wie 1.
Pankreasextrakt: nach P.A.LEVENE.
Fleisch: wie 2.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 1.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: wie 2.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	(9,30) 9,40	95,6	50,1	20,0
21	"	9,35	95,1	49,8	19,9
40	"	9,40	95,6	50,1	20,0

8.Versuch (I).

Pankreas: neues Trockenpulver von Schweinsdrüsen (nach R.WILLSTÄTTER)
Pankreasextrakt: alkalischer Auszug wie bei 2, Filtrat jedoch zur Trockne eingedampft und der Rückstand mit 50 ccm Wasser aufgenommen.
Fleisch: wie 2.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: Kahlbaum, purum.
Phosphatpuffer: wie 1.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: wie 2.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	(9,32) 9,30	94,6	49,6	19,8
22	"	9,15	93,1	48,7	19,5
44	"	9,35	95,1	49,8	19,9

9.Versuch (II).

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: saurer Auszug wie bei 3, Filtrat nach 8 weiterbehandelt.
Fleisch: wie 2.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 8.
Phosphatpuffer: wie 1.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: wie 2.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	9,30	94,6	49,6	19,8
22	"	9,10	92,6	48,4	19,4
44	"	9,40	95,6	50,1	20,0

10.Versuch (III).

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: wie 7.
Fleisch: wie 2.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 8.
Phosphatpuffer: wie 1.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: wie 2.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	9,30	94,6	49,6	19,8
22	"	9,20	93,6	49,0	19,6
44	"	9,35	95,1	49,8	19,9

11.Versuch (IV).

Pankreas: -
Pankreasextrakt: -
Fleisch: wie 2.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 8.
Phosphatpuffer: wie 1.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: 10 ccm 60 %ige Glukoselösung (1 % Phosphat) + 10 ccm Wasser + 10 ccm Plasma.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	9,30	94,6	49,6	19,8
22	"	9,30	94,6	49,6	19,8
44	"	9,35	95,1	49,8	19,9

12.Versuch (V).

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: wie 7.
Fleisch: -
Muskelplasma: -
Glukose: wie 8.
Phosphatpuffer: wie 1.

Temperatur: wie 1.
Ansatz: 10 ccm 60 %ige Glukoselösung (1 % Phosphat) + 10 ccm Pankreasextrakt + 10 ccm Wasser.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	9,30	94,6	49,6	19,8
22	"	9,25	94,1	49,3	19,7
44	"	9,35	95,1	49,8	19,9

13.Versuch (I).

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: wie 7.
Fleisch: Rindfleisch, Bruststück, frisch geschlachtet, noch warm in ein Gemisch von Toluol und Chloroform (1:1) gelegt und nach ½ Std. weiter verarbeitet.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: nach SÖRENSEN, 1 %ige Lösung, p_H = 7,0.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: wie 2.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	18,80	95,6	50,1	20,0
18	"	18,40	93,6	49,0	19,6
42	"	18,80	95,6	50,1	20,0

14.Versuch (II).

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: wie 7.
Fleisch: -
Muskelplasma: -
Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: 10 ccm 60 %ige Glukoselösung (1 % Phosphat) + 10 ccm Pankreasextrakt + 10 ccm Wasser.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	18,80	95,6	50,1	20,0
18	"	18,45	93,8	49,1	19,6
42	"	18,85	95,9	50,3	20,1

15.Versuch (III).

Pankreas: -
Pankreasextrakt: -
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.

Ansatz: 10 ccm 60 4ige Glukoselösung (1 % Phosphat) + 10 ccm Wasser + 10 ccm Plasma.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	18,80	95,6	50,1	20,0
18	"	18,75	95,4	50,0	20,0
42	"	18,85	95,9	50,3	20,1

16.Versuch (I).

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: wie 1.
Fleisch: Kalbfleisch vom Rücken, frisch geschlachtet, wie bei 13 unter Toluol und Chloroform.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: wie 2.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	18,80	95,6	50,1	20,0
20	"	18,75	95,4	50,0	20,0
44	"	18,80	95,6	50,1	20,0

17.Versuch (II).

Pankreas: -
Pankreasextrakt: -
Fleisch: wie 16.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: 10 ccm 60 %ige Glukoselösung (1 % Phosphat) + 10 ccm Wasser + 10 ccm Plasma.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	18,80	95,6	50,1	20,0
20	"	18,85	95,9	50,3	20,1
44	"	18,80	95,6	50,1	20,0

18.Versuch (I).

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: wie 1.
Fleisch: Ochsenfleisch, Rosenspitz, frisch geschlachtet, wie bei 13 und Toluol und Chloroform.

Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: wie 2.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	(18,63) 18,70	94,8	49,7	19,7
20	"	18,70	95,1	49,8	19,9
44	"	18,70	95,1	49,8	19,9

19.Versuch (II).

Pankreas: -
Pankreasextrakt: -
Fleisch: wie 18.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: 10 ccm 60 %ige Glukoselösung (1 % Phosphat) + 10 ccm Wasser + 10 ccm Plasma.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	18.65	94,8	49,7	19,9
20	"	18,75	95,4	50,0	20,0
44	"	18,80	95,6	50,1	20,0

20.Versuch.

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: wie 7.
Fleisch: Kalbfleisch, Nußstück, Ladenfleisch, über 3 Tge. alt, wie bei 13 unter Toluol und Chloroform.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: wie 2.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	18,70	95,1	49,8	19,9
24	"	18,25	92,8	48,6	19,4
48	"	18,55	94,3	49,3	19,7

21.Versuch.

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: wie 7
Fleisch: wie 2, wie bei 13 unter Toluol und Chloroform.

Muskelplasma: vor dem Befreien von Haut und Bindegewebe wurde das Fleisch in Toluol-Chloroform durch Einstellen in eine Kältemischung aus Eis + Kochsalz stark gekühlt (Gefrierfleisch), das jetzt von Haut und Bindegewebe befreite noch gefrorene Fleisch durch die Fleischmaschine getrieben, sofort in die gekühlte Phosphatmischung eingegeben und nach 1 weiterverarbeitet. Das gewonnene Muskelplasma (350 ccm) wurde mit 115 ccm 1 %igem sek. Phosphat auf o.Kresolpurpur neutralisiert.

Glukose: wie 1. Temperatur: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 13. Ansatz: wie 2.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	18,70	95,1	49,8	19,9
24	"	18,30	93,1	48,7	19,5
48	"	18,15	92,3	48,3	19,3
72	"	18,35	93,3	48,8	19,5

22.Versuch.

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: wie 1.
Fleisch: wie 21.
Muskelplasma: wie 21 (300 ccm Plasma brauchen 185 ccm sek. Phosphat).
Glukose: wie 1. Temperatur: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 13. Ansatz: wie 2.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	18,85	95,9	50,3	20,1
24	"	18,80	95,6	50,1	20,0

23.Versuch (I).

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: wie 7.
Fleisch: wie 21.
Muskelplasma: wie 21 (400 ccm Plasma brauchen 105 ccm sekundäres Phosphat).
Glukose: wie 1. Temperatur: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 13. Ansatz: wie 2.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	18,75	95,4	50,0	20,0
24	"	19,25	97,9	51,4	20,6

24.Versuch (II).

Pankreas: -
Pankreasextrakt: -
Fleisch: wie 21.
Muskelplasma: wie 23.
Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: 10 ccm 60 %ige Glukoselösung (1 % Phosphat) + 10 ccm Wasser + 10 ccm Plasma.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	18,75	95,4	50,0	20,0
24	"	19,3	98,1	51,6	20,6

25.Versuch (I).

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: wie 7.
Fleisch: wie 21.
Muskelplasma: wie 21, Plasma jedoch mit 1 %iger Bikarbonatlösung neutralisiert (200 ccm Plasma brauchen 53 ccm Bikarbonat).
Glukose: wie 1. Temperatur: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 13. Ansatz: wie 2.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	18,05	95,3	49,9	20,0
24	"	18,30	96,6	50,7	20,3

26.Versuch (II).

Pankreas: -
Pankreasextrakt: -
Fleisch: wie 21.
Muskelplasma: wie 25.
Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: 10 ccm 60 %ige Glukoselösung (1 % Phosphat) + 10 ccm Wasser + 10 ccm Plasma.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	18,05	95,3	49,9	20,0
24	"	18,50	97,7	51,4	20,6

27.Versuch (I).

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: wie 7.
Fleisch: wie 21.
Muskelplasma: wie 21, Plasma jedoch mit 0,1-n Kalilauge neutralisiert (155 ccm Plasma brauchen 23 ccm Kalilauge
Glukose: wie 1. Temperatur: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 13. Ansatz: wie 2.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	18,00	95,2	49,0	20,0
20	"	18,05	95,3	49,0	20,0

28.Versuch (II).

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: wie 7.
Fleisch: wie 21.
Muskelplasma: wie 27.
Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temp.: Eisschranktemperatur.
Ansatz: wie 2.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	18,05	95,3	49,9	20,0
20	"	18,05	95,3	49,9	20,0
		18,05			

29.Versuch (III).

Pankreas: - Pankreasextrakt: -
Fleisch : wie 21.
Muskelplasma: wie 27.
Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: 10 ccm 60 %ige Glukoselösung (1 % Phosphat) + 10 ccm Wasser + 10 ccm Plama.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	18,00	95,2	49,9	20,2
20	"	18,05	95,3	49,9	20,0

30.Versuch (I).

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: wie 1.
Fleisch: wie 2.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 13.

Temperatur: wie 1.
Ansatz: 20 ccm 60 %ige Glukoselösung (1 % Phosphat) + 10 ccm Pankreasextrakt + 10 ccm Plasma.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	5 auf 125 davon 5 = 0,20	21,35	112,7	59,9	30,0
18	"	21,25	112,2	59,7	29,9
66	"	21,75	114,8	61,2	30,6

31.Versuch (II).

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: wie 1.
Fleisch: wie 2.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: 15 ccm 60 %ige Glukoselösung (1 % Phosphat) + 5 ccm 1 %ige Phosphatlösung + 10 ccm Pankreasextrakt + 10 ccm Plasma.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	5 auf 100 davon 5 = 0,25	20,15	106,4	56,3	22,3
18	"	20,10	106,1	56,2	22,5
66	"	20,55	108,5	57,5	23,0

32.Versuch (III).

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: wie 1.
Fleisch: wie 2.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: wie 2 + 10 ccm Wasser.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	5 auf 125 davon 10 = 0,40	21,35	112,7	59,9	15,0
18	"	21,45	113,2	60,2	15,1
66	"	21,80	115,1	61,4	15,3

33.Versuch (IV).

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: wie 1.
Fleisch: wie 2.
Muskelplasma: wie 1.

Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: 5 ccm 60 %ige Glukoselösung (1 % Phosphat) + 15 ccm 1 %ige Phosphatlösung + 10 ccm Pankreasextrakt + 10 ccm Plasma.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	10 auf 125 davon 10 =0,80	21,35	112,7	59,9	7,5
18	"	21,50	113,5	60,4	7,6
66	"	21,75	114,8	61,2	7,7

34.Versuch (I).

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: wie 7.
Fleisch: wie 2.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 8.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: wie 2 und Zusatz von 10 ccm einer bikarbonathaltigen Lösung (1 Tropfen 10 %iger Bikarbonatlösung) von 50 mg Trypsin (Merck).

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 32	21,45	115,7	61,7	15,4
15	"	21,35	115,2	61,4	15,4

35.Versuch (II).

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: wie 7.
Fleisch: wie 2.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 8.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: wie 2 und Zusatz von 10 ccm einer Suspension von 40 mg Insulin.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 34	21,15	115,1	60,8	15,2
15	"	21,20	114,4	60,9	15,2

36.Versuch (III).

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: wie 7.
Fleisch: wie 2.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 8.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: wie 2 und Zusatz von 10 ccm einer Suspension von 40 mg Papain (Merck).

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 34	21,20	114,4	60,9	15,2
15	"	21,25	114,6	61,1	15,3

37.Versuch (IV).

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: wie 7.
Fleisch: wie 2.
Muskelplasma: wie 1.
Ansatz: wie 2 und Zusatz von 10 ccm einer salzsauren Lösung (ein Tropfen 0,1-n Salzsäure) von 100 mg Pepsin (Merck).
Glukose: wie 8.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 34	20,85	112,7	59,8	15,0
15	" "	21,00	113,3	60,3	15,1

38.Versuch (V).

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: wie 7.
Fleisch: wie 2.
Muskelplasma: wie 1.
Ansatz: wie 2 und Zusatz: von 10 ccm Wasser.
Glukose: wie 8.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 34	21,00	113,3	60,3	15,1
15	" "	21,15	114,1	60,8	15,1

39.Versuch.

Pankreas: -
Pankreasextrakt: -
Fleisch: -
Muskelplasma: -
Ansatz: 25 ccm 50 %ige Glukoselösung (1 % Phosphat) + 25 mg Tattamin (Merck).
Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 1.
Temperatur: wie 1.

Zeit in Tage	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	1,5 auf 250 davon 20 = 0,12	7,75	112,8	60,0	50,0
4	"	7,75	112,8	60,0	50,0
8	"	7,80	113,5	60,4	50,3

40.Versuch (I).

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: wie 7.
Fleisch: wie 2.
Muskelplasma: wie 1.
Zusatz von ein Tropfen Wasser.

Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: wie 2 und

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	17,35	95,4	50,0	20,0
17	"	17,30	95,2	49,9	20,0
37	"	17,10	94,1	49,3	19,7

41.Versuch (II).

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: wie 7.
Fleisch: wie 2.
Muskelplasma: wie 1.

Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: wie 2 und
Zusatz von 1 Tropfen 0,1-n Salzsäure.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	17,35	95,4	50,0	20,0
17	"	17,35	95,4	50,0	20,0
37	"	17,15	94,3	49,4	19,8

42.Versuch (III).

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: wie 7.
Fleisch: wie 2.
Muskelplasma: wie 1.

Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.

Ansatz: wie 2 und Zusatz von 1 Tropfen 0,1-n Natronlauge.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	17,35	95,4	50,0	20,0
17	"	17,35	95,4	50,0	20,0
37	"	17,10	94,1	49,3	19,7

43.Versuch (IV).

Pankreas: wie 8.
Pankreasextrakt: wie 7.
Fleisch: -
Muskelplasma: -

Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.

Ansatz: 10 ccm 60 %ige Glukoselösung (1 % Phosphat) + 10 ccm Pankreasextrakt + 10 ccm Wasser und
Zusatz von 1 Tropfen Wasser.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	17,35	95,4	50,0	20,0
17	"	17,10	94,1	49,3	20,0
37	"	17,50	96,3	50,5	20,2

44.Versuch (V).

Pankreas: -
Pankreasextrakt: -
Fleisch: wie 2.
Muskelplasma: wie 7.
Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: 10 ccm 60 %ige Glukoselösung (1 % Phosphat) + 10 ccm Wasser + 10 ccm Plasma und Zusatz von 1 Tropfen Wasser.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	17,35	95,4	50,0	20,0
17	"	17,75?	97,6	51,3	20,5
37	"	17,50	96,3	50,5	20,2

45.Versuch (I).

Pankreas: Drüse von einem frischgeschlachteten Schwein.
Pankreasextrakt: wie 7.
Fleisch: wie 21.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 8.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: wie 2.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	18,70	95,1	49,8	19,9
22	"	18,25	92,8	48,6	19,4
44	"	18,85	95,9	50,3	20,1
68	"	18,80	95,6	50,1	20,0

46.Versuch (II).

Pankreas: wie 45.
Pankreasextrakt: wie 7.
Fleisch: wie 21.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 8.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: wie 2 und Zusatz von 20 mg Insulin.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	18,70	95,1	49,8	19,9
22	"	18,30	93,1	48,7	19,5
44	"	18,95	96,4	50,6	20,2
68	"	18,85	95,9	50,3	20,1

47.Versuch (III).

Pankreas: -
Pankreasextrakt: -
Fleisch: wie 21.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 8.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.
Ansatz 10 ccm 60 %ige Glukoselösung (1 % Phosphat) + 10 ccm Wasser + 10 ccm Plasma.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	18,70	95,1	49,8	19,9
22	"	18,65	94,8	49,7	19,9
44	"	18,75	95,4	50,0	20,0
68	"	18,80	95,6	50,1	20,0

48.Versuch (I).

Pankreas: wie 21.
Pankreasextrakt: wie 7.
Fleisch: wie 21.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 8.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: wie 2.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	18,80	95,6	50,1	20,0
20	"	18,75	95,4	50,0	20,0
43	"	19,00	96,6	50,7	20,3
65	"	19,25	97,9	51,4	20,6

49.Versuch (II).

Pankreas: -
Pankreasextrakt: -
Fleisch: wie 21.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 8.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: 10 ccm 60 %ige Glukoselösung (1 % Phosphat) + 10 ccm Wasser und 10 ccm Plasma.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	18,80	95,6	50,1	20,0
22	"	18,65	94,8	49,7	19,9
44	"	18,60	94,6	49,6	19,8
68	"	18,85	95,6	50,3	20,1

50.Versuch (III).

Pankreas: -
Pankreasextrakt: -
Fleisch: wie 21.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 8.
Phosphatpuffer: wie 13.
Temperatur: wie 1.
Ansatz: 10 ccm 60 %ige Glukoselösung (1 % Phosphat) + 10 ccm Wasser + 10 ccm Plasma.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	wie 1	18,80	95,6	50,1	20,0
22	"	18,85	95,9	50,3	20,1
44	"	18,95	96,4	50,6	20,2
68	"	19,00	96,6	50,7	20,3

52.Versuch. Original LEVENE.

Pankreas: Drüse eines frisch geschlachteten Kaninchens, das vor dem Tode 3 Tage gehungert hat.
Pankreasextrakt: wie 7.
Fleisch: vom obigen Kaninchen.
Muskelplasma: wie 1.
Glukose: wie 1.
Phosphatpuffer: nach Henderson (Levene).
Temperatur: wie 1.
Ansatz: 25 ccm Plasma + 10 ccm 50 %ige Glukoselösung (5 % Phosphat) + 5 ccm Pankreasextrakt.

Zeit in Stdn.	Probe in ccm	ccm Permanganat	Cu in mg	Glukose in mg	Glukose in %
0	5 auf 100 davon 10 = 0,50	22,23	117,0	62,5	12,5
18		22,05	116,4	62,1	12,4
26		21,95	115,9	61,8	12,4
46		22,00	116,2	62,0	12,4

Zu den Versuchen.

Da bei dem Versuch 1 mit glycerinhaltigem Pankreaspulverextrakt keine Abnahme des Reduktionsvermögens festzustellen war, wurde erstmals vermutet, dass es an der Art und Weise der Herstellung des Pankreasextrakts liegt, weil eben hier das Abweichen vom Original am grössten ist. Es wurden daher die Versuche mit nicht glycerinhaltigen alkalischen (2, 8), sauren (3, 9), neutralen (4), alkoholischen (5) Pankreasauszug (7) angesetzt. Zu gleicher Zeit wurde auch an eine mögliche zu verstärkende Wirkung des Pankreasextrakts durch Zusatz von Insulin (6) gedacht und weiterhin an die Möglichkeit, dass ein Effekt durch eine gleichzeitige Spaltung des im Muskelplasma vorhandenen Glykogens verdeckt werden kann, was zur Folge hatte, dass nicht nur hier (11), sondern

auch in Zukunft Versuche ohne Pankreasextrakt angesetzt wurden. Hand in Hand mit letzterem wurden auch Versuche durchgeführt, welche kein Muskelplasma enthielten, da P.A.LEVENE und G.M.MEYER weiter berichten, dass durch Pankreas allein schon eine, wenn auch geringe Synthese bewirkt wird.

Was nun die Möglichkeit des Verdeckens des Effektes durch etwaige Spaltung des Glykogens betrifft, muss jetzt schon gesagt werden, dass nicht nur hier (11), sondern auch in sämtlichen untersuchten Fällen (15, 17, 19, 24, 26, 29, 44, 49) keine Anzeichen für ein Verdecken vorhanden sind. Ebenso ist in der gleichen Weise festzustellen, dass durch Pankreaspulver allein eine Abnahme des Reduktionsvermögens nicht stattfindet (12, 14, 43). Weiter ist noch auszusagen, dass ein Zusatz von Insulin (6, wiederholt 35 u. 46) und ferner auch die später durchgeführten Zusätze von Trypsin (34), Papain (36), Pepsin (37) ohne Einfluss sind. Erwähnt sei noch, dass nebenher eine erfolglose Prüfung der Wirkung von Tattamin auf Glukoselösung stattgefunden hat (39).

Infolge des Fehlens eines Verdeckens wird demnach durch die Versuche 2, 3, 4, 5, 8, 9 bewiesen, dass an dem Versagen die Art und Weise der Herstellung des Pankreasextraktes nicht schuld sein kann. Wenn nun auch der Versuch 12 zeigte, dass die von P.A.LEVENE und G.M.MEYER geforderte geringe Abnahme des Reduktionsvermögens bei Einwirkung von Pankreas allein nicht stattgefunden hat und somit der Verdacht besteht, dass ein Ersatz der frischen Drüse durch Pankreaspulver nicht möglich ist, wurde trotzdem mit Pankreaspulver (Extrakt nach 1 und nach P.A.LEVENE) weiter gearbeitet, da andererseits die Ursache des Versagens sowohl in der Herkunft des Ausgangsmaterials des Muskelplasmas als auch in der Art und Weise der Herstellung desselben liegen kann, zumal nach P.A.LEVENE und G.M.MEYER es der Zusatz von Muskelplasma ist, welcher die Ausbeute gegenüber

Pankreas allein um ein Mehrfaches erhöht. Zufolge dieser Überlegung wurde neben Kalbfleisch (Bug-, Rücken- und Nussstück) Rind- (13) und Ochsenfleisch (18) verwendet. Die Art und Weise der Herstellung des Muskelplasmas wurde dahingehend modifiziert, dass das Fleisch vor dem Verarbeiten eine halbe Stunde lang in Toluol-Chloroform gelegt wurde (13 mit 29), (45 mit 51), dass solches Fleisch vor dem Passieren durch die Fleischmaschine stark gekühlt wurde (Gefrierfleisch) (21 mit 29), dass eine Neutralisation des sauer reagierenden Muskelplasmas gegen o-Kresolpurpur mit sek. Phosphat (21 mit 24), mit Bikarbonat (25, 26), mit Kalilauge (27 mit 29) stattgefunden hat. Nachdem alle diese Variationen und auch ein bei Eisschranktemperatur durchgeführter Versuch (28) erfolglos waren und vorher noch eine ergebnislose Untersuchung mit verschiedenen Zuckerkonzentrationen (30 mit 33 und weiterhin eine ebenso ergebnislose Untersuchung in schwach salzsaurem (41) und in schwach alkalischem KOH (42) Medium stattgefunden hatte, wurde das Pankreaspulver durch eine frische Drüse ersetzt und der Extrakt nach P.A.LEVENE und G.M.MEYER bereitet (45 mit 51). Da nun aber auch hier wiederum keine Abnahme des Reduktionsvermögens festzustellen war, wurde ein Originalversuch angesetzt (52). Die nun beobachtete Nichtabnahme des Reduktionsvermögens bei dem mit peinlicher Genauigkeit durchgeführten Originalversuch hat zur Aufgabe des gesteckten Zieles geführt.

Es ist demnach nicht gelungen, die von P.A.LEVENE und G.M.MEYER berichtete Syuthese weder mittels des Originalversuches noch mittels der beschriebenen Modifikationen des Originalversuches zu wiederholen.

ADSORPTION UND ELUTION VON PANKREASMALTASE.

(Trennung von Pankreasamylase).

Da die Konzentrierung und Trennung von Enzymen durch die Arbeiten R.WILLSTÄTTERs und Mitarbeiter[18] in letzter Zeit von Erfolg waren, lag es sehr nahe die Methoden auch auf die Pankreasmaltase anzuwenden. Der Versuch ist gemacht worden und soll hier festgelegt werden.

Um eine Konzentrierung der Pankreasmaltase zu erreichen, musste zuerst festgestellt werden, ob eine Adsorption der Pankreasmaltase überhaupt möglich ist. Zu diesem Zwecke musste das Verhalten der Pankreasmaltase und, da weiter an eine Trennung der Pankreasmaltase von der Pankreasamylase gedacht wurde, auch das Verhalten der Pankreasamylase gegenüber $Al(OH)_3$, $Al(OH)_3C$, CaF_2, $BaSO_4$, Kaolin (Kahlbaum), SiO_2 (Kahlbaum), Ca-Phosphat, Tierkohle, Kohle (Merck) in der nachstehend beschriebenen Art und Weise geprüft.

Adsorptionsversuche. Die Adsorption wurde durch 5 Min. langes Durchschütteln von je 30 ccm Enzymlösung, hergestellt nach R.WILLSTÄTTER[17], mit je 30 ccm Adsorptionsreagenz bewirkt. Von dem Adsorptionsreagenz ist die Enzymlösung erstmals durch Zentrifugieren und weiter durch Filtrieren durch gehärtetes Filtrierpapaier befreit worden. Soweit die Adsorption in essigsaurer oder in ammoniakalischer Enzymlösung erfolgte, wurde mit Ammoniak bezw. Essigsäure gegen Lakmus neutralisiert. Das Prüfen der Pankreasmaltaseadsorptionsfähigkeit der angewandten Reagenzien geschah in quantitativer Weise mittels der MOHR-BERTRAND'schen Methode, das Prüfen der Pankreasamylaseadsorptionsfähigkeit der angewandten Reagenzien in qualitativer Weise mittels der Jod-Stärkereaktion. Der Ansatz lautete für die Prüfung der Pankreasmaltaseadsorptionsfähigkeit:

---

18) B. 55, 3601 (1921). 17) H. 125, 150 (1923).

30 ccm Adsorptionsfiltrat + 5 ccm 60 %ige Maltoselösung (Merck, purissime), eingewogen als Maltosehydrat, berechnet auf wasserfreie Maltose + 5 ccm 3 %ige Phosphatpufferlösung nach SÖRENSEN (Kahlbaum) p_H = 6,3 + Toluol-Chloroform; Probeentnahme in ccm: 5 auf 100, davon 10 = 0,5; für die Prüfung der Pankreasamylaseadsorptionsfähigkeit: 1 ccm Adsorptionsfiltrat + 2 ccm 2 %ige Stärkelösung (Merck) + Toluol-Chloroform.

Nr.	Art, Beschaffenheit und Menge d. Adsorptionsreagenz	Art, Grad d. Reaktion d. Enzymlsng. während der Adsorption	Maltaseprüfung			Amylaseprüfung	
			Zeit in Stdn.	ccm Permanganat	Differenz in ccm	Zeit in Stdn.	Farbreaktion
1 (I)+)	$Al(OH)_3$ A; 1 ccm enth. 35 mg	0,01-n essigsauer	0	17,95			
			23	18,05	+ 0,10	23	-
2 (II)	Tierkohle; 1 ccm enth. 66 mg	wie 1	0	17,92			
			23	22,42	+ 4,50	23	-
3 (III)	Kaolin (Kahlbaum); 1 ccm enth. 263 mg	wie 1	0	17,90			
			23	17,86	+ 0,04	23	+
4 (IV)	------ (Kontrollversuch)	wie 1	0	17,92			
			23	22,35	+ 4,43	23	-
5 (I)	SnO_2; 1 ccm enth. 85,5 mg	wie 1	0	17,95		1	+
			23	17,95	0	23	+
6 (II)	Ca-Phosphat; 1 ccm enth. 102 mg	wie 1	0	17,95			
			23	20,60	+ 2,65	1	-
7 (III)	SiO_2 (Kahlbaum); 1 ccm enth. 66 mg	wie 1	0	17,95			
			23	17,95	0	1	-
8 (IV)	Tierkohle (Merck); 1 ccm enth. 66 mg	wie 1	0	17,95			
			23	22,50	+ 4,55	1	-
9 (V)	$BaSO_4$ 1 ccm enth. 220 mg	wie 1	0	17,98			
			23	22,48	+ 4,50	1	-

+) siehe Seite 28.

Nr.	Art, Beschaffenheit und Menge d. Adsorptionsreagenz	Art, Grad d. Reaktion d. Enzymlsng. während der Adsorption	Maltaseprüfung			Amylaseprüfung	
			Zeit in Stdn.	ccm Permanganat	Differenz in ccm	Zeit in Stdn.	Farbreaktion
10 (VI)	CaF_2 1 ccm enth. 115 mg	wie 1	0	17,95			
			23	21,60	+ 3,65	1	-
11 (VII)	------ (Kontrollversuch)	wie 1	0	17,95			
			23	22,45	+ 4,50	1	-
12 (I)	$Al(OH)_3$ A; 1 ccm enth. 45 mg	neutral	0	18,00			
			24	18,03	+ 0,03	1	-
13 (II)	wie 3 (Kaolin)	wie 12	0	18,05		1	+
			24	18,00	- 0,05	21	+
14 (III)	wie 7 (SiO_2)	wie 12	0	18,00			
			24	18,03	+ 0,03	1	-
15 (IV)	----- (Kontrollversuch)	wie 12	0	18,00			
			24	21,70	+ 3,70 +)	1	-
16 (I)	$Al(OH)_3$ A; 1 ccm enth. 7 mg	0,01-n ammoniakalisch	0	17,95			
			24	21,63	+ 3,68	1	-
17 (II)	wie 3 (Kaolin)	wie 16	0	18,00			
			24	18,10	+ 0,10	1	-
18 (III)	wie 7 (SiO_2)	wie 16	0	18,03			
			24	22,30	+ 4,27	1	-
19 (IV)	----- (Kontrollversuch)	wie 16	0	18,00			
			24	22,45	+ 4,45	1	-

Zur Beurteilung der gefundenen Versuchsergebnisse inbezug auf Adsorption der Pankreasmaltase ist es nötig sich zu vergegenwärtigen, dass bei der Bestimmung des Reduktionswertes störende Stoffe, Eiweiss (Pankreas) und später auch Salze (Eluierflüssigkeit) anwesend sind, welche bei vorhan-

---

+) alter Pankreasauszug.

dener quantitativer Adsorption von Pankreasmaltase durch ein Adsorptionsreagenz ein ausgezeichnetes Übereinstimmen der betreffenden Permanganatwerte in Frage stellen. Da nun bei der Prüfung Werte gefunden wurden, die bis zu 0,08 ccm unter dem jeweilig bestimmten Anfangswerte liegen, weiterhin eine Gleichmässigkeit inbezug auf Grösse und Richtung der Abweichungen von den Anfangswerten festzustellen ist, so ist es durchaus berechtigt zu sagen, dass ein Abweichen um 0,08 ccm vom Anfangswert auch nach obenhin innerhalb der Fehlergrenze liegt. Unter der Berücksichtigung des eben Gesagten und der Art und Weise der Durchführung der Versuche eignet sich demnach zur Adsorption der Pankreasmaltase:

	in 0,01-n essigsaurer Enzymlösung	in neutraler Enzymlösung	in 0,01-n ammoniakal. Enzymlösung
Kaolin (Kahlbaum)	sehr gut	sehr gut	(sehr) gut
SiO_2 (Kahlbaum)	sehr gut	sehr gut	nicht
$Al(OH)_3$ A	(sehr) gut	sehr gut	-
$Al(OH)_3$ C	-	-	sehr schlecht
SnO_2	sehr gut	-	-
Ca-phosphat	schlecht	-	-
CaF_2	sehr schlecht	-	-

Ohne jegliches Adsorptionsvermögen und damit zur Adsorption von Pankreasmaltase völlig ungeeignet sind in 0,01-n essigsaurer Enzymlösung: $BaSO_4$, Tierkohle, Kohle (Merck).

Was die gleichzeitige Adsorption von Pankreasamylase betrifft, so ist eine quantitative Adsorption von Pankreasamylase festgestellt bei der Adsorption mit Kaolin (Kahlbaum) in 0,01-n essigsaurer und in neutraler Enzymlösung und bei der Adsorption mit SnO_2 in 0,01-n essigsaurer Enzymlösung.

Auf Grund der Eignungstabelle zur Adsorption von Pankreasmaltase wurden nun Elutionsversuche mit den in 0,01-n essigsaurer Enzymlösung vorgenommenen Fällungen mit $Al(OH)_3$ A, Kaolin (Kahlbaum), SiO_2 (Kahlbaum) und SnO_2 ß in nachfolgender Ausführung angestellt:

Elutionsversuche. Die der Elution vorausgehende Adsorption wurde in derselben Weise wie bei den Adsorptionsversuchen angegeben ist, durchgeführt. Soweit die Adsorptionsniederschläge nicht sofort verarbeitet wurden, sind dieselben mit je 5 ccm Glycerin (D.A.B.5) stabilisiert worden. Die Elution selbst wurde durch 5 Min. langes Durchschütteln mit etwa 40 ccm Eluierflüssigkeit bewirkt. Nach dem Durchschütteln wurde mit Eluierflüssigkeit auf 60 ccm aufgefüllt und nochmals kurz durchgeschüttelt. Das Entfernen des Adsorptionsreagenz aus der Eluierflüssigkeit, das Neutralisieren, das Prüfen der Eluierflüssigkeit auf Maltase und Amylase, der Ansatz für die Maltase und für die Amylaseprüfung wurden genau in derselben Weise, wie bei den Adsorptionsversuchen angegeben ist, durchgeführt. Der grösseren Sicherheit wegen wurden auch die Adsorptionsfiltrate auf Maltase und Amylase geprüft.

Nach den vorliegenden Versuchsresultaten ist ein Eluieren von Pankreasmaltase aus $Al(OH)_3$ A, Kaolin (Kahlbaum), SnO_2 ß (Kahlbaum) und SiO_2 (Kahlbaum) mittels glycerinhaltiger 5 %iger Diammonphosphatlösung und mittels einer Mischung von 20 ccm 5 %iger Diammonphosphatlösung, 120 ccm 10 %iger $CaCl_2$-Lösung und 5 ccm 2,5-n Ammoniaklösung nicht möglich. Wenn nun auch nicht alle Möglichkeiten geprüft worden sind, so ist es bei der schon festgelegten guten Eluierbarkeit von Enzymen aus $Al(OH)_3$ A und

Adsorption								
Nr.	Art, Beschaffenheit und Menge d. Adsorptionsreagenz	Art, Grad d. Reaktion d. Enzymlsng. während der Adsorption	Maltaseprüfung			Amylaseprüfung		
			Zeit in Stdn.	ccm Permanganat	Differenz in ccm	Zeit in Stdn.	Farbreaktion	
1 (I)	$Al(OH)_3$ A; 1 ccm enth. 45 mg	0,01-n essigsauer	0	18,05				5 %
			23	18,10	+ 0,05	1	-	
2 (II)	Kaolin(Kahlbaum); 1 ccm enth. 263 mg	wie 1	0	18,00				
			23	18,00	0	1	+	
3 (III)	SiO_2 (Kahlbaum; 1 ccm enth. 66 mg	wie 1	0	18,00				
			23	18,03	+ 0,03	1	-	
4 (IV)	SnO_2; 1 ccm enth. 85,5 mg	wie 1	0	18,00				
			23	18,05	+ 0,05	1	+	
5 (V)	----- (Kontrollversuch)	wie 1	0	18,08				
			23	22,52	+ 4,44	1	-	
6 (I)	wie 1 ($Al(OH)_3$ A)	wie 1	0	17,95				20 + 1 5 c
			23	18,05	+ 0,10	1	-	
7 (II)	wie 2 (Kaolin)	wie 1	0	17,90				
			23	17,95	+ 0,05	1	+	
8 (III)	wie 3 (SiO_2)	wie 1	0	17,95				
			23	18,00	+ 0,05	1	-	
9 (IV)	wie 4 (SnO_2)	wie 1	0	17,95				
			23	17,95	0	1	+	
10 (V)	----- (Kontrollversuch)	wie 1	0	18,00				
			23	22,50	+ 4,50	1	-	

Kaolin, auch SiO_2, und weiter bei der grossen Brauchbarkeit der angewandten Eluierreagenzien es sehr unwahrscheinlich, dass Pankreasmaltase überhaupt eluierbar ist. Aller Voraussicht nach wird durch die Adsorption die Pankreasmaltase zerstört werden, wie diese Erscheinung ja durchaus nicht vereinzelt dasteht.

Bei der Übertragung der Methoden R.WILLSTÄTTERs und Mit-

Elution

Elutionsreagenz	Maltaseprüfung			Amylase-prüfung	
	Zeit in Stdn.	ccm Permanganat	Differenz in ccm	Zeit in Stdn.	Farbreaktion
iges Diammonphosphat	0	18,00			
	23	17,98	- 0,02	1	-
wie 1	0	17,95			
	23	18,00	+ 0,05	1	-
wie 1	0	18,05			
	23	18,05	0	1	-
wie 1	0	18,00			
	23	18,05	+ 0,05	1	-
-----	/	/	/	/	/
ccm 5 %iges Diammonphosphat 20 ccm 10%ige $CaCl_2$ + cm 2,5-n Ammoniak	0	17,92			
	23	17.96	+ 0,03	1	-
wie 6	0	17,98			
	23	17,90	- 0,08	1	-
wie 6	0	18,03			
	23	17,95	- 0,08	1	-
wie 6	0	18,00			
	23	17,98	- 0,02	1	-
-----	/	/	/	/	/

beobachteten Nichteluierbarkeit der Pankreasmaltase aus $Al(OH)_3$ A, Kaolin (Kahlbaum), SiO_2 (Kahlbaum) und SnO_2 ß Pankreasamylase von Pankreasmaltase zu trennen. Dagegen haben sich für eine Trennung der Pankreasmaltase von Pankreasamylase, sowie für eine Konzentrierung der Pankreasmaltase keine Anhaltspunkte ergeben.

Abkürzungen.

Amer.Soc. = Journal of the American Chemical Society.

B. = Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft.

Biochem.Journ. = Biochemical Journal.

Biochem.Ztschr. = Biochemische Zeitschrift.

Bul.Soc.de Chim.din Rom. = Buletinul Societatei de Chimie din România.

C. = Chemisches Zentralblatt.

Ch.Z. = Chemiker Zeitung.

Dtsch.med.Wochschr. = Deutsche medizinische Wochenschrift.

F. = Fresenius, Zeitschrift für analytische Chemie.

H. = Hoppe-Seyler, Zeitschrift für Physiologische Chemie.

Ind.and Engin. = Journal of the Industrial and Engineering Chemistry.

Journ.de Pharm. = Journal de Pharmacie de Belgique.

Journ.of Biol.Chem. = Journal of Biological Chemistry.

J.pr. = Journal für praktische Chemie.

Ned.Tijdschr.Gen. = Nederlandsche Tijdschrift voor Geneeskund

Pharm. et Chim. = Journal de Pharmacie et de Chimique.

Pharm.Zentrh. = Pharmazeutische Zentralhalle.

Soc.Chem.Ind. = Journal of the Society of the Chemical Indust

Ztschr.Ver.Dtsch.Zuckerind. = Zeitschrift des Vereins der Deu schen Zuckerindustrie.

LEBENSLAUF.

Ich wurde am 19.April 1898 als Sohn des Geheimen Justizrats Giessen in Zweibrücken geboren. Nach vierjährigem Volksschulunterricht besuchte ich die damalige Real- jetzt Oberrealschule in Zweibrücken. Ende März 1915 machte ich die Notprüfung für die 7.Klasse und rückte am 17.April 1915 als Kriegsfreiwilliger ein. Im März 1916 wurde ich verwundet. Nach dem Kriegsende wurde ich als Leutnant der Reserve von der Fliegerabteilung 11 entlassen. Ende 1919 legte ich in Eigenschaft als Kriegsteilnehmer in Würzburg die Reifeprüfung ab und bezog dortselbst die Universität. Am 12.Juli 1921 bestand ich das 1.Verbandsexamen. Von Beginn des Sommersemesters 1922 an oblag ich meinen Studien an der Universität München. Am 21.Februar 1924 legte ich das 2.Verbandsexamen ab und arbeitete unter Leitung des damaligen Privatdozenten jetzt Professor Herrn Dr.Richard KUHN bis Juni 1926 an meiner Doktorarbeit.